

**Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe
des Menschen bei Hyperlipidämie**

Wilhelm Krone

1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553801_0084

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München
(Direktor: Prof.Dr.med. H.Schwiegk)

Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe des Menschen
bei Hyperlipidämie

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von
Wilhelm Krone
aus Gronau

München 1971

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. Schwandt
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Schwiegk
Dekan:	Prof. Dr. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	1.7.1971



Herrn Professor Dr. H. SCHWIEGK danke ich für die freundliche Förderung meiner Arbeit in seiner Klinik. Herrn Priv.Doiz.Dr. P. SCHWANDT möchte ich für die Überlassung des Themas, die vielfache geistige Anregung und praktische Hilfe während der Durchführung der Arbeit herzlich danken. Herrn Professor Dr. R. ZENKER (Chirurgische Universitätsklinik, Nußbaumstraße) und Herrn Oberarzt Dr. A. MEYER (Städtisches Krankenhaus, Thalkirchner Straße) bin ich für die freundliche Überlassung von Humanfettgewebsproben aus chirurgischen Operationen zu großem Dank verpflichtet.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. METHODIK	3
I. ENZYMUNTERSUCHUNGEN	3
1. Entnahme der Gewebeproben	3
2. Herstellung der Enzymlösungen	3
3. Messung der Enzymaktivitäten	6
a) Testprinzip	6
b) Testbedingungen	8
c) Enzymtests	10
4. Bezugsgrößen	24
5. Auswertung	25
a) Enzymeinheit	25
b) Berechnung	27
6. Küvettenversuche	28
II. IN VITRO-LIPOLYSE	28
1. Präparation	28
2. Inkubation	28
3. Bestimmung des freigesetzten Glycerins	28
4. Berechnung der lipolytischen Aktivität	29
III. CHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN DES BLUTSERUMS UND DES URINES	30
1. Gesamtlipide	30
2. Gesamtcholesterin	30
3. Freie Fettsäure	30
4. Triglyceride	30
5. Glukose	30
6. Harnstoff-N	30
7. Kreatinin	30
8. Eiweißelektrophorese	31
9. Eiweiß im Urin	31

	Seite
10. SGOT	31
11. SGPT	31
12. Gesamtbilirubin	31
13. Alkalische Phosphatase	31
 IV. STATISTIK	 31
1. Definitionen	31
2. Prüfung auf Nichtnormalität	32
3. Signifikanzberechnung	32
a) Vergleich der Varianzen	32
b) Vergleich der Mittelwerte	32
4. Regression	33
 C. ERGEBNISSE	 34
I. ENZYMUNTERSUCHUNGEN	34
1. Hyperlipidämien verschiedener Genese	34
a) Kontrollkollektiv	34
b) Hyperlipidämie	38
c) Teilkollektiv der Patienten mit den höchsten Serumlipiden	39
2. Normalkollektiv - Essentielle Hyperlipidämie - Alkohol-induzierte Hyperlipidämie - Nephrotisches Syndrom	40
a) Essentielle Hyperlipidämie	40
b) Alkohol-induzierte Hyperlipid- ämie	42
c) Nephrotisches Syndrom	44
3. Normalkollektiv - Essentielle Hyperlipidämie - Adipositas+Hyper lipidämie - Adipositas	46
a) Adipositas+Hyperlipidämie	46
b) Adipositas	47

	Seite
4. Normalkollektiv - Diabetes - Diabetes+Hyperlipidämie - Essen- tielle Hyperlipidämie	49
a) Diabetes	50
b) Diabetische Hyperlipidämie	52
c) Lipolyse und Phosphodiesterase bei Diabetes	53
5. Normalkollektiv - Diabetes - Diabetes+Adipositas - Adipositas	53
a) Diabetes+Adipositas	53
b) Adipositas - Diabetes	58
6. Therapie	58
a) Küvettenversuche	58
b) In vivo-Versuche	60
7. Gehalt an löslichem Protein	61
II. KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN	61
D. DISKUSSION	72
E. ZUSAMMENFASSUNG	84
F. LITERATURVERZEICHNIS	88
Lebenslauf	

LEGENDEN DER ABKÜRZUNGEN

ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BAL	British Anti Lewisit (Dimercaprol)
CoA	Coenzym A
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
E.P.	Extraktprotein
F.G.	Frischgewicht
NAD(H)	Nikotinadenindinukleotid (reduzierte Form)
NADP(H)	Nikotinadenindinukleotidphosphat (reduzierte Form)
P	Phosphat
TRAP	Triäthanolamin-HCl-Puffer
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan-HCl-Puffer

A. EINLEITUNG

Bei Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen haben E. und F.W. SCHMIDT in systematischen Untersuchungen den diagnostischen Wert von Enzymaktivitätsbestimmungen im Gewebsmaterial aus Leberbiopsien herausgearbeitet (117). Enzymaktivitäten im H u m a n f e t t g e w e b e sind bisher vorwiegend nur bei stoffwechselgesunden Probanden gemessen worden (Tab. 14 (35, 116, 122)). In klinischen Fällen liegen lediglich vereinzelte Untersuchungen vor (Glucose-6-Phosphatdehydrogenase, TJABBES (135)); Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase und Glycerophosphat-Oxydase, GALTON (44)); Glycerophosphat-Oxydase, LEE und LARDY (83a)).

Seit BÜRGER und GRÜTZ (13) erstmalig 1932 über einen Fall von "Essentieller Hyperlipämie" berichteten, ist die Forschung auf dem Gebiet des Fettstoffwechsels erheblich intensiviert worden, besonders im Hinblick auf die Zusammenhänge mit der Atherosklerose und ihren Folgezuständen (115). Für den Metabolismus der Glyceride sind vor allem Darm (exogene Triglyceride), Leber (endogene Triglyceride) und Fettgewebe (Speicherung und Mobilisation) von Bedeutung (31, 115).

Auf Grund seiner Fähigkeit zur raschen Lipolyse, Lipogenese und Glukoseverwertung spielt das Fettgewebe eine zentrale Rolle in der Kalorienhomöostase des Organismus (14).

Die Ursache der meisten Stoffwechselerkrankungen, speziell der Hyperlipidämien, ist weitgehend ungeklärt (16, 32, 54, 73, 115). Nachdem die klinische Erforschung des Fettstoffwechsels und seiner Veränderungen sich vorwiegend auf

Untersuchungen von Resorption, Synthese und Abbau in der Leber sowie Veränderungen im Blut (Lipoproteinlipase, Lipoproteine) konzentrierte, soll in der vorliegenden Arbeit ein Beitrag über das metabolische Verhalten des Fettgewebes bei Hyperlipidämie gegeben werden.

Durch Bestimmung von S c h l ü s s e l e n z y m e n im subkutanen Fettgewebe bei verschiedenen Hyperlipidämie-Formen versuchen wir, einen Einblick in seine Stoffwechsellage zu gewinnen:

1. Dabei gehen wir zunächst von dem Leitsymptom "Hyperlipidämie" aus und versuchen dann,
2. für die verschiedenen Hyperlipidämie-Formen typische Enzymaktivitätsmuster im Fettgewebe aufzuzeigen.
Indem wir
3. Enzymmuster im Fettgewebe von Patienten derselben Grundkrankheit ohne Begleithyperlipidämie aufstellen, sollen
4. Hinweise gewonnen werden, inwieweit Veränderungen des Enzymusters eine Bedeutung für die Pathogenese der Hyperlipidämie haben könnten.

B. METHODIK

(Die verwendeten Materialien, Reagenzien und Apparaturen sind am Ende des jeweiligen Abschnittes genannt.)

I. ENZYMUNTERSUCHUNGEN

1. Entnahme der Gewebeproben:

Alle Enzymmessungen wurden im weißen Fettgewebe des Menschen, das subkutan aus dem Abdominalbereich entnommen wurde, durchgeführt. Für Vergleichsuntersuchungen verwendeten wir das epididymale Fettgewebe der Ratten.

Die "Normalwerte" wurden an Fettgewebeproben chirurgischer Patienten, die nicht karzinom- oder stoffwechselkrank waren, ermittelt. Die Gewebsentnahme erfolgte zu Beginn von Operationen; die Probanden standen dabei unter Fluothane-Stickoxydul-Narkose, die mit Pentothal eingeleitet wurde.

Das Untersuchungsmaterial von stoffwechselkranken Patienten (I. und II. Medizinische Universitäts-Klinik) erhielten wir durch Fettgewebsexzision:

Im Abdominalbereich wurde nach subkutaner Applikation einer 2%igen Novocain-Lösung mit dem Skalpell ein 2 cm langer Hautschnitt gelegt und das darunter befindliche Fettgewebe mit Schere und Pinzette unter sterilen Bedingungen entnommen.

2. Herstellung der Enzymlösungen:

Das Untersuchungsmaterial wurde unmittelbar nach der Entnahme in einem eisgekühlten Becher zur Verarbeitung gebracht; die Transportzeit betrug maximal 7 Minuten.

Die Aufarbeitung der Gewebprobe bestand aus folgenden Arbeitsgängen:

- Abtupfen des anhaftenden Blutes mit Filterpapier,
 - Abpräparieren des makroskopisch sichtbaren Bindegewebes,
 - Zerkleinerung mit der Schere,
 - Einwiegen in das auf 4°C vorgekühlte Extraktionsmedium:
-
- a) Ein Teil Gewebe und zwei Teile Extraktionsmedium I für die Phosphodiesterase (33 %iges Homogenat).
 - b) Ein Teil Gewebe und zwei Teile Extraktionsmedium II für die Enzyme Malic Enzyme, Glycerokinase und Citrate Cleavage Enzyme (33 %iges Homogenat).
 - c) Ein Teil Gewebe und neun Teile Extraktionsmedium II für die Enzyme Glukose-6-Phosphatdehydrogenase, 6-Phosphoglukonatdehydrogenase, Glukophosphomutase, Hexokinase, Phosphofruktokinase, Pyruvatkinase, Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase, Malatdehydrogenase, Glutamatpyruvattransaminase, Glutamatoxalacetattransaminase, und Glutamatdehydrogenase (10 %iges Homogenat).
 - d) 3 mg Gewebe und 0,5 ml Extraktionsmedium III für die Glukose-6-Phosphatase.

Das Fettgewebe wurde in dem Extraktionsmedium mit einem vorgekühlten Glas-Homogenisator 1,5 Minuten unter Eiskühlung homogenisiert (Vollhomogenat). Für die Bestimmung der Transaminasen, Glutamatpyruvattransaminase und Glutamatoxalacetattransaminase, und der Glutamatdehydrogenase wurde

aus dem Vollhomogenat 0,5 ml entnommen, mit 1,5 ml Aqua bidest. verdünnt (12,34) und bei 6.000 g x 10 Minuten in einer Kühlzentrifuge bei 4°C zentrifugiert. Mit einer Spritze zogen wir den unter der Lipidschicht befindlichen wäßrigen Überstand ab und hielten ihn bis zur Messung 4 Stunden lang im Eisbad. Das übrige Homogenat wurde für 30 Minuten (bzw. 20 Minuten bei der Phosphodiesterase) ultrazentrifugiert (30.000 Umdrehungen/Min.). Der auf diese Weise über dem Sediment entstandene partikelfreie, klare Überstand wurde mit einer Spritze abgezogen, indem wir die Lipidschicht vorsichtig mit einer Kanüle durchstachen, in vorgekühlte Gefäße eingefüllt und bis zur Enzymmessung im Eisbad gehalten.

Das aus d) gewonnene Homogenat wurde, wie in B, I, 3 c² angegeben, weiterverarbeitet.

M a t e r i a l i e n , R e a g e n z i e n u n d A p p a r a t u r e n :

Filterpapier Whatman Nr. 1

Präparationsschere und -pinzette

Extraktionsmedium I: TRIS-Puffer, 0,168 M, pH = 7,4
(Fa. Merck, Best.Nr.: 8382)

Extraktionsmedium II: 0,15 M KCl, 0,01 M TRA-HCl-Puffer,
0,001 M EDTA (Fa. Merck, Best.Nr.:
4136, 8379, 8418)

Extraktionsmedium III: Citrat-Puffer, 0,1 M, pH = 6,5
(Nachstellung des pH mit 1 n KOH,
bzw. 1 n HCl)

Glashomogenisator (2 ml) nach Potter-Elvehjem (für die
Glukose-6-Phosphatase) und

Glashomogenisator (30 ml) nach Potter-Elvehjem (für alle
übrigen Enzyme) mit Teflon-Stempel

Kühlzentrifuge (Fa. Christ, Osterode)
 Ultrazentrifuge: Spinco-L-Beckmann (München).
 Winkelrotor: Typ 30 mit Plastik-Röhrchen
 Ultrazentrifuge: MSE Super-Speed 65 (England)
 Winkelrotor: Titanion Winkel-Rotor.

3. Messung der Enzymaktivitäten:

a) Testprinzip:

Alle Enzymaktivitäten - außer der Glukose-6-Phosphatase - wurden im Optischen Test (20) gemessen. Das Prinzip des direkten Optischen Testes beruht darauf, daß bei den Reaktionen der betreffenden Enzyme stöchiometrisch ein Substrat umgewandelt wird, dessen Konzentrationsänderung sich auf der Grundlage des Lambert-Beerschen Gesetzes erfassen läßt: Danach ist die Extinktion E eines durch die Küvette fallenden Lichtstrahles proportional der Konzentration c eines Stoffes N und der Schichtdicke d dieser Küvette:

$$E \sim c \times d$$

bzw.

$$E = c \times d \times \epsilon,$$

wobei ϵ der bei einer bestehenden Wellenlänge λ für N spezifische Proportionalitätsfaktor (= Extinktionskoeffizient) ist. Da d und ϵ konstant sind, ist die Konzentrationsänderung des Metaboliten bei geeigneter Wellenlänge durch die Extinktionsänderung ablesbar. Allgemein gilt für verschiedene Wellenlängen :

$$\Delta \epsilon = \frac{\lg \left(\frac{1}{1-\epsilon} \right) N_1 - \lg \left(\frac{1}{1-\epsilon} \right) N_2}{c \times d}$$

i_0 = Die Intensität des in die Küvette einfallenden Lichtstrahles

i = Intensität des aus der Küvette ausfallenden Lichtstrahles

N_1 = Metabolit vor dem Start der Reaktion

N_2 = Aus der vollständigen Umsetzung von N_1 entstehender Metabolit.

Für die Pyridinnukleotide ist bei der Wellenlänge

$\lambda = 366 \text{ nm}$ und der Temperatur $t = 25^\circ\text{C}$

$$\zeta = 3,30 \frac{\text{cm}^2}{\text{Mol}},$$

bei der Wellenlänge $\lambda = 340 \text{ nm}$ und der Temperatur $t = 25^\circ\text{C}$

$$\zeta = 6,29 \frac{\text{cm}^2}{\text{Mol}}.$$

Für Adenosin/Inosin ist bei der Wellenlänge

$\lambda = 265 \text{ nm}$ und $t = 25^\circ\text{C}$

$$\zeta = 8,1 \frac{\text{cm}^2}{\text{Mol}}.$$

Die in B, I, 3, c¹-c¹⁷ aufgeführten Enzyme ohne Nukleotidumsatz lassen sich nach dem Prinzip des optischen Testes bestimmen, indem durch Zugabe geeigneter Hilfsenzyme das entstandene Substrat in einer Nukleotid-verbrauchenden Reaktion umgesetzt wird (zusammengesetzter Optischer Test). Da alle Hilfsenzyme im Überschuß zugesetzt werden, sind die jeweiligen Nukleotidumwandlungen nur von dem Enzym,

dessen Aktivität bestimmt werden soll, limitiert und daher seiner Aktivität proportional. Entsprechend wurde der Phosphodiesterase-Test aufgebaut, der zu der spektrometrisch zu verfolgenden Adenosindesaminierung führt.

b) Testbedingungen:

Alle Messungen erfolgten in Photometern mit thermostanten Küvettenhaltern. Die Extinktionsänderungen wurden von angeschlossenen Kompensationsschreibern aufgezeichnet (s.u., Apparaturen).

Als kontinuierliche, monochromatische Strahlungsquelle diente eine Quecksilber-Lampe.

Messung der Phosphodiesterase-Aktivität:

Wellenlänge λ = 265 nm	Spaltbreite s = 20 nm
Küvettentestvolumen 1 ml	Schichtdicke d = 0,5 cm

Reaktionstemperatur

t = +25°C

Messung der Aktivitäten von Malic Enzyme, Citrate Cleavage Enzyme und Glycerokinase:

Wellenlänge λ = 340 nm	Spaltbreite s = 20 nm
Küvettentestvolumen 3ml	Schichtdicke d = 1 cm

Reaktionstemperatur

t = +25°C und

+37°C

Papiervorschub am Schreiber bei den Messungen von Phosphodiesterase, Malic Enzyme, Citrate Cleavage Enzyme und Glycerokinase:

1 cm/min.

0,125 Extinktionsänderung $\cong$ 20 cm Papierbreite.

Messung der Enzymaktivitäten von der Glukose-6-Phosphatdehydrogenase, 6-Phosphoglukonat-Dehydrogenase, Glukophosphomutase, Hexokinase, Phosphofruktokinase, Pyruvatkinase, Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase, Malatdehydrogenase, Glutamatpyruvattransaminase, Glutamatoxalacetattransaminase und Glutamatdehydrogenase:

Wellenlänge	λ = 366 nm	Spaltbreite s = 7x12 mm
Küvettentestvolumen	3 ml	Schichtdicke d = 1 cm

Reaktionstemperatur

t = +25°C und

+37°C

Papiervorschub am Schreiber:

0,5 cm/min.

0,25 Ext.Änderung $\cong$ 20 cm Papierbreite.

Hilfsenzyme des gekoppelten Testes wurden ohne Extrakt auf Vorhandensein von Fremdaktivität geprüft.

Aktivitäten endogener NADP-Reduktasen und NADH-Oxydasen wurden im Kontrolltest ohne Substrat ausgeschlossen.

Alle Enzymaktivitäten wurden in Doppelmessungen und immer in derselben Reihenfolge bestimmt.

Für die Herstellung der Testansätze wurden Marburg-Pipetten verwendet.

Über die gesamte Dauer des Testes (ca. 1,5 Stunden) wurden die Enzymlösungen und Reagenzien im Eisbad gehalten.

A p p a r a t u r e n :

Photometer "Eppendorf", angeschlossen ein Schreibgerät der Fa. Philips (verwendet für Messungen bei der Wellenlänge $\lambda = 366 \text{ nm}$)

Spektrophotometer der Fa. Zeiss PM 4, angeschlossen ein Schreibgerät "Servogor" ("RE 511" Fa. Metrawatt, Nürnberg) (verwendet für Messungen bei der Wellenlänge $\lambda = 340$ und 265 nm)).

Normalküvetten, 1 cm Schichtdicke, Füllvolumen 4,5 ml
Halbmikroküvetten aus UV-Licht durchlässigem Quarzglas, 0,5 cm Schichtdicke, 2,5 ml Füllvolumen (verwendet für die Aktivitätsmessung der Phosphodiesterase) (Fa. Eppendorf).

Thermostat F-Junior der Fa. Haake, Berlin.

c) Enzymtests:

c¹) H e x o k i n a s e (ATP: D-hexose 6-phosphotransferase; EC 2.7.1.1.)

Reaktion: $\text{ATP} + \text{Hexose} = \text{Hexose-6-Phosphat} + \text{ADP}$

Test: Die Aktivitätsbestimmung erfolgte in dem von SLEIN et al. (125) angegebenen Test:

$\text{Glukose} + \text{ATP} \longrightarrow \text{Glukose-6-Phosphat} + \text{ADP}$

$\text{Glukose-6-Phosphat} + \text{NADP}^+ \longrightarrow \text{6-Phosphoglukosonsäure} + \text{NADPH} + \text{H}^+$ (Hilfsreaktion mit Glukose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH)).

Testzusammensetzung (nach BÜCHER et al. (20), modifiziert für das Fettgewebe):

TRAP	50 mM	Adenosintriphosphat	1,5 mM
EDTA	5 mM	D(+)-Glukose	22 mM
		(BÜCHER et al.	2 mM)
MgSO ₄	8 mM	G-6-PDH	730 mU/ml Testvolumen
NADP	0,3 mM	pH =	7,5

Start der Reaktion mit 0,5 ml Gewebsextrakt.

c²) G l u k o s e - 6 - P h o s p h a t a s e

(D-Glukose-6-phosphate phosphohydrolase; EC 3.1.3.9)

Reaktion: Glukose-6-Phosphat + H₂O = Glukose + Phosphat

Test: Die Aktivitätsmessung erfolgt nach dem von SWANSON (132) angegebenen Prinzip:

Testzusammensetzung (HARPER) (61).

In Eppendorf-Reaktionsgefäße (1,5 ml) werden pipettiert:

0,1 ml Homogenat (auf 37°C temperiert)

0,1 ml Glukose-6-Phosphat (0,08 M)

Inkubation 15 Min. bei 37°C.

Stop durch Zugabe von

1,2 ml 28 %iger HClO₄

0,3 ml Aqua bidest.

5 Min. scharfes Abzentrifugieren des Proteins in der Mikrozentrifuge "Mikro Rapid" (Fa. Hettich).

0,5 ml des Überstandes werden mit 0,5 ml Aqua bidest. verdünnt. Versuchs- und Kontrollansätze jeweils im doppelten Ansatz.

Die Phosphat-Messung wurde nach FISKE und SUBAROW (38) mit dem Zeiss-Spektralphotometer PM 4 bei der Wellenlänge $\lambda = 660$ nm durchgeführt.

c³) P h o s p h o f r u k t o k i n a s e :

(ATP: D-fruktose-6-phosphate 1-phosphotransferase;
EC 2.7.1.11)

Reaktion: Fruktose-6-Phosphat + ATP = Fruktose-1,6-Diphosphat + ADP

Test: Der von RACKER (103) angegebene Test besteht aus folgenden hintereinander geschalteten Reaktionen:

Fruktose-6-Phosphat + ATP $\longrightarrow$ Fruktose-1,6-Diphosphat
Dihydroxyacetonphosphat + Glyceraldehyd-3-Phosphat (1),
Glyceraldehyd-3-Phosphat $\longrightarrow$ Dihydroxyacetonphosphat (2)
2 Dihydroxyacetonphosphat + 2 NADH + 2 H⁺ $\longrightarrow$ 2 Glycerin-1-Phosphat + 2 NAD⁺ (3)

Hilfsreaktion (1) mit Aldolase

Hilfsreaktion (2) mit Triosephosphatisomerase (TIM)

Hilfsreaktion (3) mit Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase (GDH)

Pro Phosphatübertragung werden zwei Äquivalente an NADH oxydiert.

Testzusammensetzung(nach BÜCHER et al.) (20):

TRAP	50 mM	Fruktose-6-Phosphat	1,6 mM
EDTA	5 mM	Aldolase	730 mU/ml Testvolumen
MgSO ₄	8 mM		
NADH	0,22 mM	TIM	1460 mU/ml Testvolumen
ATP	1,5 mM	GDH	2200 mU/ml Testvolumen

pH = 7,5

Der Start der Testreaktionen erfolgt durch Zugabe von 0,5 ml Gewebsextrakt.

c⁴) F r u k t o s e - 1,6 - D i p h o s p h a t a s e
(D-Fruktose-1,6-diphosphate 1-phosphohydrolase;
EC 3.1.3.11)

Reaktion: Fruktose-1,6-Diphosphat + H₂O = Fruktose-6-Phosphat + HPO₄

Test: Prinzip nach RACKER und SCHROEDER (104)

Reaktion: Fruktose-1,6-Diphosphat + H₂O → Fruktose-6-Phosphat + HPO₄

Fruktose-6-Phosphat → Glukose-6-Phosphat (Hilfsreaktion 1 mit Phosphoglukoisomerase (PGI)).

Glukose-6-Phosphat + NADP⁺ → 6-Phosphatglukonat + NADPH + H⁺ (Hilfsreaktion 2 mit G-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH)).

Testzusammensetzung (nach BÜCHER et al.) (20), ohne Cystein:

TRAP	50 mM	Fruktose-1,6-Diphosphat	0,2 mM
EDTA	5 mM	Gewebsextrakt	0,5 ml
MgSO ₄	8 mM	PGI	1800 mU/ml Testvolumen
NADP	0,3 mM	G-6-PDH	1800 mU/ml Testvolumen

Die Meßreaktion wird mit Fruktose-1,6-Diphosphat gestartet.

c⁵) P y r u v a t k i n a s e
(ATP: pyruvate phosphotransferase: EC 2.7.1.40)

Reaktion: Phosphoenolpyruvat + ADP = Pyruvat + ATP

Test: Das Prinzip beruht auf dem zuerst von NEGELEIN (92) angegebenen Test:

Phosphoenolpyruvat + ADP → Pyruvat + ATP

Pyruvat + NADH + H⁺ → L-Laktat + NAD⁺ (Hilfsreaktion mit Laktatdehydrogenase (LDH)).

Testzusammensetzung (nach BÜCHER et al. (20)):

TRAP	50 mM	Adenosindiphosphat	1,5 mM
EDTA	5 mM	Phosphoenolpyruvat	0,8 mM

MgSO ₄	8 mM		
NADH	0,22 mM	LDH	730 mU/ml Testvolumen
KCl	75 mM		

pH = 7,5

Die Meßreaktion wird mit 0,1 ml Gewebsextrakt ausgelöst.

c⁶) G l u k o s e - 6 - P h o s p h a t d e h y d r o -
g e n a s e (D.Glukose-6-phosphate: NADP oxido-
reduktase; EC 1.1.1.49)

Reaktion: Glukose-6-Phosphat + NADP⁺ = 6-Phosphoglukon-
säure + NADPH + H⁺

Test: Bestimmung nach dem von KORNBERG und HORECKER (80)
angegebenen Prinzip.

Testzusammensetzung (nach LÖHR und WALLER) (86):

TRAP	50 mM	NADP	0,5 mM
EDTA	5 mM	Glukose-6-Phosphat	0,67 mM

pH = 7,5

Gewebsextrakt 0,2 ml.

Start der Reaktion mit Glukose-6-Phosphat.

c⁷) 6 - P h o s p h o g l u k o n a t d e h y d r o -
g e n a s e (6-phospho-D-glukonate: NADP oxido-
reductase (decarboxylating); EC 1.1.1.44)

Reaktion: 6-Phospho-D-Glukonat + NADP⁺ = D-Ribulose-
5-Phosphat + CO₂ + NADPH + H⁺

Test: Die Aktivitätsbestimmung erfolgt in dem von HORECKER
und SMYRNIOTIS (70) angegebenen Test.

Testzusammensetzung (nach DELBRÜCK et al.) (26):

TRAP	50 mM	NADP	0,3 mM
EDTA	5 mM	Glukonat-6-Phosphat	1 mM
MgSO ₄	8 mM		

pH = 7,5

Gewebeextrakt 0,2 ml.

Start der Reaktion mit Glukonat-6-Phosphat.

c⁸) G l y c e r i n - 1 - P h o s p h a t d e h y d r o -
g e n a s e (L-Glycerol-3-Phosphate: NAD oxido-
reductase; EC 1.1.1.8)

Reaktion: Dihydroxyacetonphosphat + NADH + H⁺ = L-Glycerin-
1-Phosphat + NAD⁺

Test: Die NAD-spezifische Dehydrogenase wird in dem von
BARANOWSKI (6) angegebenen Test gemessen.

Testzusammensetzung(nach BÜCHER et al.) (20):

TRAP	50 mM	NADH	0,22 mM
EDTA	5 mM	Dihydroxyacetonphosphat	0,4 mM

pH = 7,5

Gewebeextrakt 0,05 ml

Die Auslösung der Testreaktion erfolgt durch Dihydroxy-
acetonphosphat.

c⁹) G l y c e r o k i n a s e (ATP: glycerol phospho-
transferase; EC 2.7.1.30)

Reaktion: Glycerin + ATP = L-Glycerin-3-Phosphat + ADP

Test: Die Bestimmung erfolgte mit dem sogenannten "Glycerin-
Test" nach WIELAND und SUYTER (148):

Glycerin + ATP $\longrightarrow$ L-Glycerin-1-Phosphat + ADP
 L-Glycerin-3-Phosphat + NAD^+ $\longrightarrow$ Dihydroxyacetonphosphat +
 $\text{NADH} + \text{H}^+$ (Hilfsreaktion mit Glycerin-1-Phosphatdehydro-
 genase (GDH)).

Dihydroxyacetonphosphat + Hydrazin $\longrightarrow$ Hydrazon (Puffer)

Testzusammensetzung (nach WIELAND und SUYTER) (148):

Hydrazin-Glykokoll-Puffer pH = 9,8
 (Hydrazin 1M, Glykokoll 0,2 M, MgCl_2 0,002 M)
 ATP 1,9 mM Glycerin 2,5 mM
 NAD 0,5 mM GDH 4000 mU/ml Testvolumen
 Gewebsextrakt 0,5 ml.

Die Reaktion wird mit Glycerin gestartet.

c¹⁰) M a l a t d e h y d r o g e n a s e (L-Malate:
 NAD oxidoreductase; EC1.1.1.37):

Reaktion: Oxalacetat + $\text{NADH} + \text{H}^+$ = L-Malat + NAD^+

Test: Die Aktivitätsbestimmung in dem von MEHLER et al.
 (90) angegebenen Test wird durch die Gleichgewichtslage
 der Reaktion begünstigt.

Testzusammensetzung (nach DELBRÜCK et al.) (26):

TRAP	50 mM	NADH	0,22 mM
EDTA	5 mM	Oxalacetat	0,2 mM

pH = 7,5

Gewebsextrakt 0,02 ml.

Die Reaktion wird durch Zugabe von Oxalacetat gestartet.
 Das verwendete Substrat wurde frisch gelöst. Die ge-
 wählte Konzentration des Oxalacetats liegt im Substrat-
 optimum des extramitochondrialen Enzyms.

c¹¹) "M a l i c E n z y m e" (L-Malat: NAD oxido-reductase; EC 1.1.1.38)

Reaktion: L-Malat + NADP⁺ = Pyruvat + CO₂ + NADPH + H⁺

Testzusammensetzung A (nach PETTE et al.) (97):

TRAP	50 mM	NADP	0,3 mM
EDTA	5 mM	L-Malat	2 mM
MgSO ₄	8 mM		
	pH = 7,5		

Gewebsextrakt 0,5 ml

Der Test wird durch Zugabe von L-Malat gestartet.

Testzusammensetzung B (nach RUTTER) (113):

TRIS	0,3 M	NADP	2 mM
MgSO ₄	10 mM	L-Malat	1 M
	pH = 7,4 - 8,5		

Gewebsextrakt 0,5 ml

Der Test wird durch Zugabe von L-Malat gestartet.

c¹²) C i t r a t e C l e a v a g e E n z y m e
(ATP: Citrate oxaloacetylase; EC 4.1.3.8)

Reaktion: Citrat + CoA + ATP = Acetyl-CoA + Oxalacetat + ADP + Phosphat

Test: Bestimmung nach einem vom SRERE (128) angegebenen Prinzip:

Citrat + CoA + ATP → Acetyl-CoA + Oxalacetat + ADP + P
Oxalacetat + NADH + H⁺ → Malat + NAD⁺ (Hilfsreaktion mit Malatdehydrogenase (MDH)).

Testzusammensetzung (nach KORNACKER und BALL) (79):

TRIS	33,3 mM, pH = 7,4	K-Citrat	10 mM
MgCl ₂	10 mM	MDH	10 µg
BAL	10 mM	NADH	0,08 mM
KCN	1 mM		

Gewebsextrakt 0,5 ml

Start der Reaktion mit ATP 5 mM.

c¹³) G l u k o p h o s p h o m u t a s e (alpha-D-Glucose-1,6-Diphosphat: alpha-D-Glucose-1-phosphat phosphotransferase; EC 2.7.5.1.)

Reaktion: Glukose-6-Phosphat + Glukose-1,6-Diphosphat =
Glukose-6-Phosphat + Glukose-1,6-Diphosphat

Test: Die Aktivitätsbestimmung erfolgte im zusammengesetzten Test nach KLENOW und EMBERLAND (78):

Glukose-6-Phosphat + Glukose-1,6-Diphosphat $\longrightarrow$ Glukose-6-Phosphat + Glukose-1,6-Diphosphat

Glukose-6-Phosphat + NADP^+ $\longrightarrow$ 6-Phosphoglukonat + $\text{NADPH} + \text{H}^+$ (Hilfsreaktion mit Glukose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH)).

Testzusammensetzung (nach PETTE et al., (97) für das Fettgewebe modifiziert (ohne Cystein)):

TRAP	50 mM	NADP	0,3 mM
EDTA	5 mM	Glucose-6-Phosphat	8 mM
MgSO ₄	8 mM		
	pH = 7,5		

Gewebeextrakt 0,3 ml G-6-PDH 730 mU/ml Testvolumen

Der Start der Meßreaktionen erfolgte durch Zugabe von Glukose-6-Phosphat.

c¹⁴) G l u t a m a t o x a l a c e t a t t r a n s - a m i n a s e (L-Aspartat: 2-oxoglutarat aminotransferase; EC 2.6.1.1.):

Reaktion: L-Aspartat + alpha-Ketoglutarat = Oxalacetat + L-Glutamat

Test: Das Testprinzip wurde von KARMEN et al. (76) ausgearbeitet:

L-Aspartat + alpha-Ketoglutarat $\longrightarrow$ Oxalacetat + L-Glutamat, Oxalacetat + $\text{NADH} + \text{H}^+$ $\longrightarrow$ L-Malat + NAD^+ (Hilfsreaktion mit Malatdehydrogenase (MDH)).

Testzusammensetzung(nach PETTE et al.) (97):

$\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$	100 mM	α -Ketoglutarat	5 mM
EDTA	5 mM	L-Aspartat	30 mM
NADH	0,22mM	MDH 730 mU/ml	Testvolumen

Gewebsextrakt 0,5 ml

Auslösung der Meßreaktion durch L-Aspartat.

c¹⁵) G l u t a m a t p y r u v a t t r a n s a m i n a s e
(L-Alanin: 2-oxoglutarataminotransferase; EC 2.6.1.2.)

Reaktion: L-Alanin + alpha-Ketoglutarat = Pyruvat +
L-Glutamat

Test: Das Testprinzip wird von PFLEIDERER et al. (102)
so angegeben:

L-Alanin + alpha-Ketoglutarat $\longrightarrow$ Pyruvat + L-Glutamat
Pyruvat + NADH + H^+ $\longrightarrow$ Lactat + NAD^+ (Hilfsenzym: Lactat-
dehydrogenase (LDH)).

Testzusammensetzung (DELBRÜCK et al. (26), für das
Fettgewebe modifiziert):

$\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$	100 mM	alpha-Ketoglutarat	7 mM
EDTA	5 mM	L-Alanin	280 mM
NADH	0,22 mM	(DELBRÜCK et al:	40 mM)
		LDH 730 mU/ml	Testvolumen

pH = 7,4

Gewebsextrakt 0,5 ml

Start der Reaktion durch L-Alanin.

c¹⁶) G l u t a m a t d e h y d r o g e n a s e (L-Gluta-
mat: NAD oxidoreductase; EC 1.4.1.3)

Reaktion: L-Glutamat + H_2O + NAD^+ = α -Ketoglutarat + NH_4
+ NADH + H^+

Test: Das Prinzip wird von OLSON et al. (94) und STRECKER (131) beschrieben: Die Aktivitätsbestimmung erfolgt in der oben aufgeführten, von rechts nach links verlaufenden Reaktion.

Testzusammensetzung (nach DELBRÜCK et al. (25), für das Fettgewebe modifiziert):

TRAP	50 mM	NADH	0,22 mM
EDTA	5 mM	alpha-Ketoglutarat	5 mM
(NH ₄)SO ₄	40 mM	(DELBRÜCK et al.:	3 mM)
pH = 7,5			

Gewebsextrakt 0,5 ml

Nach der Zugabe des Gewebsextraktes erfolgt mit a-Ketoglutarat der Reaktionsstart.

c¹⁷) P h o s p h o d i e s t e r a s e (Orthophosphoric diester phosphohydrolase; EC 3.1.4.1; Phosphodiesterase II)

Reaktion: 3', 5'-Adenosinmonophosphat + H₂O = 5'-Adenosinmonophosphat

Test: Das Testprinzip wird von DRUMMOND und PERROTYEE (30) angegeben:

3', 5'-Adenosinmonophosphat + H₂O → 5'-Adenosinmonophosphat, 5'-Adenosinmonophosphat → Adenosin + HPO₄⁻⁻⁻ (Hilfsreaktion 1 mit alkalischer Phosphatase (AP)).

Testansatz (nach MÜLLER-ÖRLINGHAUSEN) (91):

TRIS	67 mM	pH = 7,4
MgCl ₂	1 mM	
ADA, Sulfatsuspension	4000 mU/1 ml Testvolumen	
AP, Sulfatsuspension	350 mU/1 ml Testvolumen	
Cycl.3'-, 5'-Adenosinmonophosphat	72 mM	

Gewebsextrakt 0,5 ml

Die Meßreaktionen werden mit 3', 5'-Adenosinmonophosphat gestartet.

Material und Präparationen

Puffer:

Die Puffer wurden während der Erprobungszeit in unserem Labor angesetzt, später aus der Apotheke der Kliniken, links der Isar, p.a. bezogen und vor Gebrauch auf ihren pH-Wert überprüft. Eventuelle Nacheichungen erfolgten mit KOH bzw. HCl:

0,01 M TRA-HCl-Puffer, 0,15 M KCl ,	0,001 M
EDTA	pH = 7,4
TRIS-HCl-Puffer 0,02 M	pH = 7,4
TRIS-HCl-Puffer 0,033 M	pH = 7,4
TRIS-HCl-Puffer 0,168 M	pH = 7,4
TRIS-HCl-Puffer 0,3 M, EDTA 0,01 M	pH = 7,5
TRA-HCl-Puffer 0,2 M	pH = 7,5
K_2HPO_4/KH_2PO_4 -Puffer 0,1 M	pH = 7,4
Citrat-Puffer 0,1 M	pH = 6,5

Hydrazin-Glykokoll-Puffer nach

WIELAND und SUYTER (148):

20,8 g Hydrazinhydrat (24%), Firma Merck
Best.Nr. 4600

1,5 g Glykokoll, Fa. Merck Best.Nr. 4201

0,2 ml 1 M Magnesiumchlorid Fa. Merck
Best.Nr. 5883

werden mit Wasser und 8 N Kaliumhydroxyd zur Einstellung eines pH = 9,8 auf 100 ml Endvolumen gebracht.

Dieser Puffer hat folgende Molaritäten:

Hydrazin: 1 M, Glykokoll: 0,2 M und Magnesium⁺⁺: 0,002 M.

Triäthanolamin p.a. (Best.Nr. 8379), Tris(hydroxymethyl)-aminomethan p.a. (Best.Nr. 8382), sekundäres Kaliumphosphat (Best.Nr. 5099) und Titriplex (EDTA) (Best.Nr. 8418) stammten von der Fa. Merck, Darmstadt.

Primäres Kaliumphosphat bezogen wir von der Fa. Schuchhardt, München.

Enzyme: (Fa. Boehringer, Mannheim-Waldhof)

Glukose-6-Phosphatdehydrogenase	Best.Nr.	15 303	EGAE
Aldolase	" "	15 419	EAAF
Triosephosphat-Isomerase	" "	15 333	ETAA
Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase	" "	15 135	EGAQ
Malatdehydrogenase	" "	15 048	EMAA
Lactatdehydrogenase	" "	15 371	ELAC
Adenosin-Desaminase	" "	15 846	EAAC
Alkalische Phosphatase	" "	15 436	EPAC
Phosphoglukose-Isomerase	" "	15 433	EPAN

N u k l e o t i d e :

Nicotin-Adenin-Dinukleotidphosphat	" "	15 600	CNAF
Nikotin-Adenin-Dinukleotid	" "	15 300	CNAA
Nikotinadenin-Dinukleotid, reduziert	" "	15 142	CNAB

Die Lösungsansätze erfolgten mit NaHCO_3 (15).

Substrate: (Fa. Boehringer, Mannheim-Waldhof)

Adenosin-5'-Triphosphat	Best.Nr.	15 028	NAAH
Adenosin-5'-Diphosphat	" "	15 014	NAAG
Adenosin-3',5'-Monophosphosäure	" "	15 076	NAAE

Der Lösungsansatz erfolgte unter Zugabe
von KOH, (pH = 7,4)

Glukose-6-Phosphat	" "	15 307	SGAK
Glukose-1-Phosphat	" "	15 085	SGAQ
Glukonat-6-Phosphat	" "	15 176	SGAD
Fruktose-6-Phosphat	" "	15 172	SFAD
Fruktose-1,6-Diphosphat	" "	15 294	SFAE

Dihydroxyacetonphosphat-Dimethylketal	" "	15 401	SDAA
---------------------------------------	-----	--------	------

Die Hydrolyse zur Herstellung des Dihydroxyaceton-
phosphat erfolgte nach Fischer (37):

20 mg der Substanz werden in 2,0 ml H₂O gelöst und mit 0,4 ml Dowex 50 (X 8; 200 - 400 mesh; H⁺ - Form) versetzt. Nach kräftigem Schütteln der Mischung (1 Min.) wird der pH auf 1,5 nachgestellt und die Lösung vom Austauscherharz in ein Kölbchen gesaugt. Das gut verschlossene Gefäß wird 6 Stunden bei 40°C gehalten.

Das Dihydroxyacetonphosphat wird anschließend enzymatisch geprüft.

Phosphoenolpyruvat	Best.Nr. 15 308 SPAC
Oxalessigsäure	" " 15 188 SOAA

Die Substanz wurde erst kurz vor Gebrauch in H₂C gelöst. Eine enzymatische Überprüfung erfolgte nach HOHORST und REIM (67).

α -Ketoglutar säure	Best.Nr. 15 673 SKAA
----------------------------	----------------------

Der Lösungsansatz erfolgte mit KOH, pH = 7,5.

L(+)-Asparaginsäure	Best.Nr. 15 029 AAAA
---------------------	----------------------

Der Lösungsansatz erfolgte mit 1 m KOH.

D,L-Alanin	Best.Nr. 15 030 AAAB
------------	----------------------

CoA	" " 15 100 CCAB
-----	-----------------

Fa. Merck, Darmstadt:

D(+)-Glukose	" " 8 337 E
--------------	-------------

Glycerin, doppelt destilliert 1,23 p.a.	" 4 094
---	---------

Maleinsäure zur Synthese (IAB)	" " 380
--------------------------------	---------

Der Lösungsansatz erfolgte unter Zugabe von KOH, pH = 7,5.

Ammoniumsulfat	Best.Nr. 1 217
----------------	----------------

Kalium-Citrat	" " 4 956
---------------	-----------

Aktivatoren und Inhibitoren: (Fa. Merck, Darmstadt)

Magnesiumsulfat	Best.Nr. 5 886
-----------------	----------------

Kaliumchlorid	" " 4 936
---------------	-----------

Magnesiumchlorid	" " 5 883
------------------	-----------

Kalium	" " 4 967
--------	-----------

Fa. Schuchardt:

BAL (Dimercaprol)	" " ME 013
-------------------	------------

Andere Reagentien:

HClO ₄ (60 %ig); Fa. Merck, Darmstadt	Best.Nr.	516
HCL 0,5 normal; " " "	" "	9 085
Kalium-Ferricyanid 10%ig, p.a., Apotheke der Münchner Kliniken links der Isar		
Trichloressigsäure 3M, Fa.Merck	" "	811
Biuret-Reagens, p.a., Apotheke der Münchner Kliniken.		

4. Bezugsgrößen:

Als Bezugsgrößen dienten

a) Das Organfrischgewicht:

Genaue Wägungen des Vakuum-getrockneten Sedimentes ergaben, daß beim Fettgewebe die Menge des 100 000 g Überstandes dem Volumen des zur Homogenisation eingesetzten Extraktionsmediums entspricht, so daß die von einer bestimmten Gewichtseinheit Fettgewebe gelieferte Überstandsmenge leicht berechenbar ist:

$$\text{Enzymaktivität} / 1g \text{ Frischgewicht} = U \cdot \frac{\left(\frac{100}{x\%} - 1\right)}{H}$$

mit U = Aktivität in der Küvette (s.u. 5., b.)

H = in den Test eingesetzte Menge Gewebsextrakt(ml)

x% = Prozentigkeit des Homogenates.

b) Der Gehalt an löslichem Extraktprotein:

0,2 ml des Überstandes wurden mit 0,2 ml 3 M Trichloressigsäure versetzt, um das Protein auszufällen.

Nach dem Abzentrifugieren (20 Min. • 6 000 Umdrehungen pro Min.) wird der Überstand vorsichtig dekantiert und der Eiweißniederschlag in 0,2 ml Biuret-Reagens gelöst. Von der nach 30 Minuten bei 546 nm abgelesenen Extinktion wird der Leerwert des Biuret-Reagens abgezogen. Die Berechnung erfolgte nach einer von uns mit Rinderalbumin standardisierten Eichkurve, deren Verlauf wir durch eine Regressionsgerade ermittelten (modifizierte Methode nach BEISENHERZ et al. (7)) (Abb. 1).

$$\text{Enzymaktivität/1 mg Extraktprotein} = \frac{U}{H \cdot P}$$
$$P = \text{mg Extraktprotein/1 ml.}$$

R e a g e n z i e n u n d A p p a r a t u r e n :

Zentrifuge Typ UJ 3 (Fa. Christ, Osterode)

Photometer Eppendorf

Trichloressigsäure 3 m (Fa. Merck, Best.Nr. 811)

Biuret-Reagens, p.a., Apotheke der Münchner Kliniken.

5. Auswertung:

a) Enzymeinheit:

Als Enzymeinheit U wird diejenige Enzymmenge definiert, die unter den genannten Bedingungen und bei der Temperatur $t = 25^{\circ}\text{C}$ 1 μMol Substrat in einer Minute umsetzt (46).

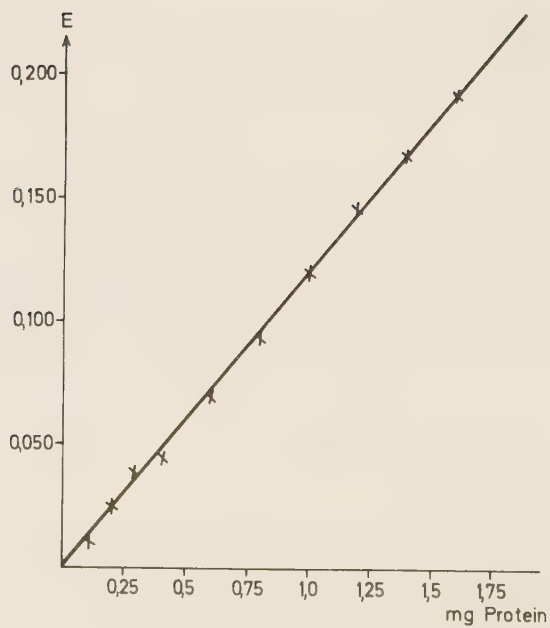


Abb. 1: Eichkurve einer mit Rinderserumalbumin standardisierten Methode zur Proteinbestimmung.

b) Berechnung:

Für die Bestimmung der Enzymaktivität wurde die Reaktionsgeschwindigkeit 2 Minuten nach dem Start gemessen. Dabei wurde das Verhältnis Extinktionsänderung/Zeit aus der von dem Schreiber aufgezeichneten Kurve bestimmt. Alle Enzymreaktionen hatten zwischen 2 und mindestens 15 Minuten nach dem Start einen annähernd linearen Verlauf. Die Aktivität U wurde nach folgender Formel berechnet:

$$U = \frac{1}{\epsilon \cdot d} (\Delta v \cdot TV - \Delta v' \cdot TV')$$

$$\Delta v = \frac{E}{t}$$

$$\Delta v' = \frac{E}{t'}$$

E = Extinktion

ϵ = Extinktionskoeffizient

d = Kuvettenschichtdicke

t, t' = gemessene Zeit der Reaktion bzw.
des linearen "Vorschleiches".

TV = Testvolumen

TV' = Testvolumen vor Zugabe der für den
Reaktionsstart verwendeten Substanz.

Die genaue Ausrechnung der Aktivitäten und ihre Zuordnung zu den oben genannten Bezugssystemen wurde mit einem Tischcomputer Programm 1001 (Fa. Olivetti) durchgeführt; dafür stellten wir ein eigenes Programm auf. Als Ergebnisse wurden ausgedruckt:

mU/ g Frischgewicht

mU/mg Extraktprotein.

6. Küvettenversuche:

5 Minuten nach dem Start der jeweiligen Enzymreaktion wurden in den 3 ml Testansatz in getrennten Versuchen

- a) 400 μ l 50 %iges Propanol,
- b) 2×10^{-5} Mol DHEAS in 300 μ l 50 %igen Propanol,
- c) 400 μ l MgSO_4 (2×10^{-4} Mol)

zugegeben und der Reaktionsverlauf graphisch 30 Minuten verfolgt.

II. IN VITRO-LIPOLYSE

1. Präparation:

Die Fettgewebeproben wurden in physiologischer Kochsalzlösung gespült und nach kurzem Trocknen auf Filterpapier in Portionen zu 100 mg abgewogen.

2. Inkubation:

Vor Beginn der Inkubation, die wir 3 Stunden mit einer Temperatur von $t = +37^\circ\text{C}$ bei einer Schüttelfrequenz von 60/Min. und einer Amplitude von 2 cm in der Warburg-Apparatur durchführten, wurde durch die Gefäße Carbogen-Gas geleitet; die luftdicht verschlossenen Reaktionsgefäße enthielten je einmal 100 mg Fettgewebe in 3 ml Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer.

3. Bestimmung des freigesetzten Glycerins:

Nach der Inkubation wurden 0,2 ml des Mediums aus den

Warburg-Gefäßen entnommen und die Glycerin-Konzentration nach EGGSTEIN und KREUTZ (32) bestimmt.

4. Berechnung der lipolytischen Aktivität:

Die genaue Ausrechnung der lipolytischen Aktivität erfolgte mit dem Tischcomputer Programma 101 (Fa.Olivetti). Dafür stellten wir ein eigenes Programm auf, das auf einer Magnetkarte gespeichert wurde. Als Ergebnisse wurden ausgedruckt:

$$\begin{aligned} & \mu\text{Mol} - \text{Glycerin} / 100 \text{ mg Frischgewicht} \\ & - \text{Glycerin} / 100 \text{ mg Frischgewicht.} \end{aligned}$$

M a t e r i a l i e n , R e a g e n z i e n u n d A p p a r a t u r e n :

Warburg-Apparatur und -Gefäße (Fa. Braun, Melsungen)

Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer:

100 Teile 0,9 % NaCl 0,154 M
4 Teile 1,15 % HCl 0,154 M
3 Teile 1,618 % CaCl₂ 0,11 M
1 Teil 2,11 % KH₂PO₄ 0,154 M
1 Teil 3,82 % MgSO₄ • 7 H₂O 0,154 M
21 Teile 3 % NaHCO₃ 0,154 M

physiologische Kochsalzlösung

Carbogen (95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxyd)
(Fa. Linde, Altona).

III. CHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN DES BLUTSERUMS UND DES URINES:

Es wurden folgende Größen bestimmt:

1) Gesamtlipide:

mit der Sulfophosphovanillin-Reaktion
nach ZÖLLNER und KIRSCH (152),

2) Gesamtcholesterin:

nach SPERRY und WEBB (127),

3) Freie Fettsäuren (FFS):

nach den Angaben von DOLE (21, 29) mit ge-
waschenem Nilblau A als Indikator (GORDON;
49). Die dazu eingesetzte Serummengge betrug
0,5 bis 1,0 ml. Als Standard diente ein
Gemisch aus Palmitin-, Stearin-, Myristin-
und Laurinsäure in n-Heptan (jeweils 1 mval/l),

4) Triglyzeride:

nach Verseifung in alkoholischer KOH
(KOH 0,5 n, CH_5OH 25 m) erfolgte die Bestim-
mung des freien Glycerins wie unter II/3
angegeben,

5) Glukose:

mit der o-Toluidin-Methode nach KREUTZ (81)
(im Autoanalyzer Technikon (London)),

6) Harnstoff-N:

mit dem Autoanalyzer nach SKEGGS (124a) und
MARSCH et al. (81a),

7) Kreatinin:

mit dem Autoanalyzer nach CHASSON et al. (23)
und STEVENS und SKEGGS (130a),

- 8) Eiweiß-Elektrophorese:
auf Cellulose-Acetat-Folie,
- 9) Eiweiß im Urin:
a) mit der Sulfosalizylsäureprobe,
b) quantitativ nach Esbach,
- 10) SGOT:
nach der Methode von A. KARMEN et al. (76),
- 11) SGPT:
nach der Methode von WROBLEWSKI und
LA DUE (149),
- 12) Gesamtbilirubin:
nach L. JENDRASSIK und P. GROF (71),
- 13) Alkalische Phosphatase:
nach O.A.H. BESSEY et al. (8).

IV. STATISTIK

1. Definitionen:

n = Fallzahl

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} \quad \text{Mittelwert}$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x)^2}{n - 1}} \quad \text{Standardabweichung des Einzelwertes } x$$

s_x^2 = Streuung (Varianz) des Einzelwertes x

$s_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}}$ Standardabweichung des Mittelwertes $\bar{x}$

$VK = \frac{s_x}{\bar{x}} \cdot 100$ Variationskoeffizient

2. Prüfung auf Nichtnormalität:

mit dem Kolmogoroff-Smirnow-Test (82).

3. Signifikanzberechnungen:

a) Vergleich der Varianzen:

mit der F-Verteilung nach FISCHER:

$$F = \frac{s_{x1}^2}{s_{x2}^2}$$

b) Vergleich der Mittelwerte:

mit dem t-Test nach STUDENT:

α) bei signifikant verschiedenen Varianzen:

$$t = \frac{|\bar{x} - x|}{\sqrt{\frac{s_{x1}^2}{n_1} - \frac{s_{x2}^2}{n_2}}}$$

β) bei nicht signifikant verschiedenen Varianzen:

$$t = \frac{|\bar{x} - x|}{\sqrt{\frac{s_{x1} + s_{x2}}{n_1 + n_2} - 2 \cdot \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

c) Signifikanzzahlen:

für den zweiseitigen Test: $2 \alpha = 0,01$ bzw. $0,05$

für den einseitigen Test: $\alpha = 0,01$ bzw. $0,05$

für den Test auf Nichtnormalität: $\alpha = 0,2$

Die 2 P (bzw. P)Werte wurden in den "Wissenschaftlichen Tabellen", Documenta Geigy (Basel) (46), abgelesen.

4. Regression:

Die Berechnung der Regressionsgerade für

$$y_i = f(x_i)$$

erfolgte mit der Formel:

$$y = \bar{y} + b(x - \bar{x})$$

mit

$$b = \frac{s_{xy}}{s_x^2} \quad s_{xy} = \frac{S(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{n - 1}$$

Alle statistischen Berechnungen wurden mit dem Tischcomputer "Programma" der Fa. Olivetti durchgeführt. Dafür stellten wir jeweils eigene Programme auf, die auf Magnetkarten gespeichert wurden.

C. ERGEBNISSE

I. ENZYMUNTERSUCHUNGEN

1. Hyperlipidämien verschiedener Genese:

In Abbildung 2 haben wir 33 Patienten mit Hyperlipidämien verschiedener Genese einem Kontrollkollektiv gegenübergestellt.

a) Kontrollkollektiv:

Das Fettgewebe stammt von Stoffwechselgesunden und Nichtkarzinomkranken. Adipöse und Kachektiker wurden nicht berücksichtigt. (Idealgewicht der untersuchten Probanden nach (46), Abweichung nicht über $\pm 7\%$.)

Die Hexokinase, die mit der Phosphorylierung der freien Glukose zu Glukose-6-Phosphat den für die gesamte G l u - k o s e u t i l i s a t i o n des Humanfettgewebes limitierenden Reaktionsschritt katalysiert (89), hat einen relativ niedrigen Enzymspiegel; die Glukokinase ist im Fettgewebe bisher nicht nachgewiesen (144). Für die den o x i d a t i v e n Glukoseabbau (Pentosephosphatzyklus) kontrollierenden Enzyme (Glukose-6-Phosphatdehydrogenase und 6-Phosphoglukonatdehydrogenase) fanden wir eine wesentlich höhere Aktivität als für das den a n a e r o b e n Glukoseabbau limitierende (27, 66-69) Enzym Phosphofruktokinase. Diese Enzymproportionen bedeuten, daß im Fettgewebe der "Seitenweg" des Horecker-Shuntes den Hauptweg des Glukose-Abbaus darstellt (112). Glukose-6-Phosphat kann auch über die von der Glukophosphomutase katalysierte Reaktion, die wir relativ hoch gefunden haben, Eingang in das G l y k o g e n finden (2, 59).

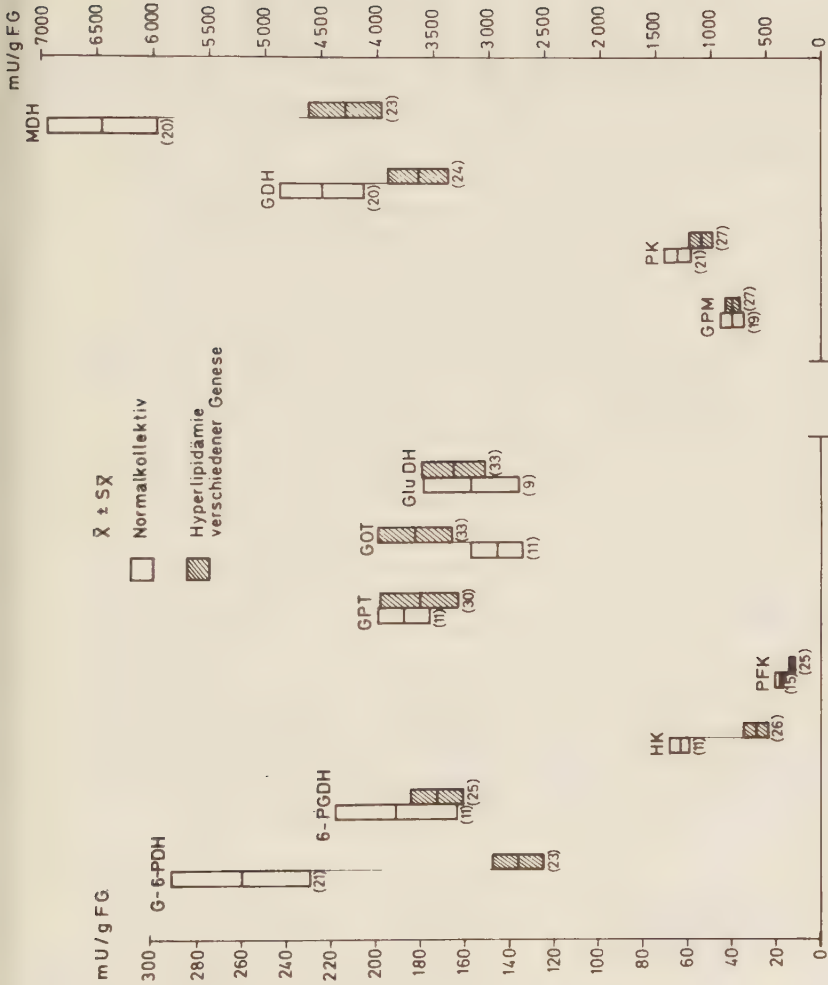


Abb. 2: Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe bei Patienten mit Hyperlipidämien verschiedener Genese im Vergleich zu Normalwerten. Fallzahlen in Klammern. Angegeben sind der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung des Mittelwertes s_x .

Als drittes Enzym der Glykolyse bestimmten wir die Pyruvatkinase, das die Bereitstellung von Pyruvat und Acetyl-Coenzym A kontrolliert (22). Hexokinase, Phosphofruktokinase und Pyruvatkinase sind one-way-Enzyme (66, 67, 68, 143, 144, 145). Die hohe Aktivität der Pyruvatkinase korreliert mit Befunden aus anderen Organen (116, 122).

Eine Glukoneogenese findet im Fettgewebe nicht statt: Die Glukose-6-Phosphatase und die Fruktose-1, 6-Diphosphatase waren nicht nachweisbar.

Die Fettsäuresynthese der Fettzelle wird im cytoplasmatischen Raum lokalisiert (120). Das dafür notwendige Acetyl-Coenzym A entsteht aus verschiedenen Vorstufen (hauptsächlich Pyruvat) nur intramitochondrial. Sein Transport durch die Mitochondrienmembran erfolgt in dem von ROGNSTAD und KATZ 1966 beschriebenen Pyruvatzyklus (110, 11), nach Kondensation mit Oxalacetat zu dem gut membrandiffusiblen Citrat. Die Konzentration der Citrate Cleavage Enzyme, das extramitochondrial die Spaltung dieses Moleküles in Oxalacetat und Acetyl-Coenzym A katalysiert (79, 128), erwies sich im Humanfettgewebe als zu klein für den Meßbereich der von uns verwendeten Methode (Tab. 1). Ebenso konnten wir in den angegebenen Tests keine Aktivität des Malic Enzymes nachweisen. Dagegen fanden wir eine sehr hohe Aktivität der allerdings global gemessenen Malatdehydrogenase, das den Zwischenschritt Oxalacetat/Malat katalysiert.

Für die Fettsäuresynthese ist die Bereitstellung von reduziertem Pyridinnukleotid NADPH notwendig (39, 147). Nach FLATT und BALL (39) wird es zu 60 % in den einleitenden Reaktionen des Pentosephosphatzyklus (Glukose-6-Phosphatdehydrogenase und 6-Phosphoglukonatdehydrogenase) und zu 30 % bei der Transhydrogenierung (Malic Enzyme) gebildet

	CCE	ME	MDH	G-6-PDH	6-PGDH
Ratte					
$\bar{x}$	2,0	Spuren	2300	31,8	35,0
$s_{\bar{x}}$	0,25		460	5,6	8,3
s_x	0,5		920	11,1	16,5
VK	25		40	35	47
n	4		4	4	4
Mensch					
$\bar{x}$	mit den verwen-		327	11,9	10,2
$s_{\bar{x}}$	deten Methoden		25,7	0,72	0,90
s_x	nicht nachweis-		115	3,3	3,0
VK	bar		36	28	29
n			20	21	11

Tabelle 1: Aktivitäten (mU/mg E.P.) der mit der Fettsäuresynthese korrelierenden Enzyme des epididymalen bzw. subcutanen Fettgewebes von Ratte und Mensch. Angegeben sind der Mittelwert $\bar{x}$, die mittlere Abweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ und des Einzelwertes s_x , der Variationskoeffizient VK und die Fallzahl n.

Abkürzungen der Enzymnamen, ausführlich in: B, I, 3, c

CCE	Citrate Cleavage Enzyme	c ¹²
ME	Malic Enzyme	c ¹¹
MDH	Malatdehydrogenase	c ¹⁰
G-6-PDH	Glukose-6-Phosphatdehydrogenase	c ⁶
6-PGDH	6-Phosphoglukonatdehydrogenase	c ⁷

(Ratte), während die Isocitratdehydrogenase hierfür im Fettgewebe keine Rolle spielt (111). Der Aktivitätsgehalt dieser drei Enzyme gibt somit einen indirekten Hinweis auf den Umfang der Fettsäuresynthese im Humanfettgewebe (28, 124, 129).

Die Bereitstellung des für die Triglyceridsynthese notwendigen α -Glycerophosphat erfolgte im Fettgewebe durch eine von der Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase katalysierten Reaktion (Dihydroxyacetonphosphat/ α -Glycerophosphat) aus der Glykolyse (137). Die für einen direkten Einbau des freien Blutglycerins notwendige Glycerokinase konnten wir nicht nachweisen, während die Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase-Aktivität sehr hoch gefunden wurde.

Die mit dem Pyruvat- und Citratzyklus akzessorisch verbundenen Transaminasen (GOT und GPT) und die Glutamatdehydrogenase haben im Fettgewebe eine Aktivität gleicher Größenordnung, die wesentlich kleiner als die der entsprechenden Leberenzyme ist (117).

Für die intramitochondriale Glutamatoxalacetattransaminase und die Enzyme des Citrat-Zyklus ist eine Systemkorrelation bekannt (96).

Die Prüfung der Enzymwerte auf Nichtnormalität, die für eine Fallzahl $n = 19$ durchgeführt wurde, ergab bei $\alpha = 0,2$ keine Signifikanz (82) (siehe B IV, 2). Die Signifikanzberechnung zwischen den einzelnen Kollektiven erfolgte nach B, IV, 3 a und b.

b) Hyperlipidämie:

Die von uns zunächst untersuchten 33 Patienten (22 männlich, 11 weiblich) mit dem Leitsymptom "Hyperlipidämie"

haben folgende Serumwerte:

Gesamtlipide zwischen 1 200 mg% und 11 500 mg%;
Triglyceride zwischen 300 mg% und 6 000 mg%. Das Alter
dieser Patienten liegt zwischen 24 und 60 Jahren mit einem
Mittel von 41 ± 10 Jahren.

Gegenüber dem Kontrollkollektiv finden wir signifikante
Unterschiede bei der Hexokinase, die mit $2 P < 0,001$ er-
niedrigt ist. Sowohl die Glukose-6-Phosphatdehydrogenase
als auch die die Glykolyse kontrollierende Phosphofrukto-
kinase (27) sind signifikant herabgesetzt ($2 P < 0,001$
bzw. $2 P < 0,006$). Die Coenzym-Bereitstellung für die Fett-
säuresynthese (147) ist vermindert; die Aktivitäten des
an der NADPH-Bildung beteiligten Enzyme Glukose-6-Phosphat-
dehydrogenase und der Malatdehydrogenase sind mit $2 P < 0,001$
erniedrigt. Eine im Verhältnis dazu relativ geringe Akti-
vitätsminderung weist die α -Glycerophosphat bereitstellen-
de Glycerin-3-Phosphatdehydrogenase auf ($P < 0,034$).

Die Mittelwerte der anderen von uns bestimmten Enzymspiegel
zeigen im Vergleich zum Normalkollektiv nur geringe Unter-
schiede: Eine leichte Erhöhung finden wir bei der Glutamat-
oxalacetattransaminase und Glutamatdehydrogenase, eine
Verminderung bei der Glutamatpyruvattransaminase, bei der
Glukophosphomutase.

c) Teilkollektiv der Patienten mit den höchsten Serum-
lipiden:

Bei dem Teilkollektiv der 10 Patienten mit den höchsten
Triglyceridwerten (über 2 000 mg%) zeigen sich die gleichen

Veränderungen der Enzymaktivitäten wie beim Gesamtkollektiv: Wir können somit keine Korrelation zwischen Höhe der Lipidwerte und Enzymaktivitäten nachweisen.

In den Abbildungen 3 bis 5 haben wir das Gesamtkollektiv in Essentielle Hyperlipoproteinämien und Sekundäre Hyperlipidämien (alkoholinduzierte Hyperlipidämie, Nephrotisches Syndrom, Hyperlipidämien bei Diabetes und Adipositas) unterteilt und diese Kollektive durch zusätzliche Untersuchungen erweitert. Die klinischen Befunde und Symptome sind in den Tabellen 6 bis 13 zusammengestellt. Daneben haben wir ein Enzymmuster bei Diabetes, bei Adipositas und bei Diabetes+ Adipositas bestimmt (Abb. 6), um dem Einfluß der Grundkrankheit Rechnung zu tragen. Die Aktivitätswerte dieser 9 Kollektive sind in der Tabelle 2 zusammengestellt.

In den Abbildungen 3 bis 6 steht das Kontrollkollektiv jeweils an erster Stelle im log. Netz, in denen die Mittelwerte und die Standardabweichung der Mittelwerte von den einzelnen Krankheitsbildern miteinander verglichen werden.

2. Normalkollektiv - Essentielle Hyperlipidämie - Alkoholinduzierte Hyperlipidämie - Nephrotisches Syndrom:

Abbildung 2 zeigt Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie, mit Alkoholinduzierter Hyperlipidämie und mit Nephrotischem Syndrom im Vergleich zum Normalkollektiv.

a) Essentielle Hyperlipidämie:

Die Essentielle Hyperlipidämie ist serumelektrophoretisch als Typ 4 nach FREDRICKSON (4) gekennzeichnet (Tab. 6).

Tabelle 2: Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe (mU/g Frischgewicht) bei den einzelnen Patientenkollektiven. Angegeben sind der Mittelwert $\bar{x}$, die Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ und die des Einzelwertes s_x , der Variationskoeffizient VK und die Fallzahl n.

Abkürzungen der Enzymnamen, ausführlich in: B,I,3.

G-6-PDH	Glukose-6-Phosphatdehydrogenase	C ⁶
6-PGDH	6-Phosphoglukonatdehydrogenase	C ⁷
GPM	Glukophosphomutase	C ¹³
HK	Hexokinase	C ¹
PFK	Phosphofruktokinase	C ³
PK	Pyruvatkinase	C ⁵
GDH	Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase	C ⁸
MDH	Malatdehydrogenase	C ¹⁰
GPT	Glutamatpyruvattransaminase	C ¹⁵
GOT	Glutamatoxalacetattransaminase	C ¹⁴
GlDH	Glutamatdehydrogenase	C ¹⁶

	G-6-PDH	6-PGDH	GPM	HK	PFK	PK	GDH	MDH	GPT	GOT	GLDH
Normal											
$\bar{x}$	260	191	810	63,7	19	1300	4500	6450	188	146	158
$s_{\bar{x}}$	31,4	27,4	103	4,4	1,9	122	373	490	11,6	11,8	21,7
s_x	144	91	450	14,6	7,3	558	1670	2190	38,5	39,3	65
VK	55,4	47,6	55,6	22,9	38,4	42,9	37,1	34	20,5	26,9	41,1
n	21	11	19	11	15	21	20	20	11	11	9
Ess. Hyperlipidämie											
$\bar{x}$	127	157	641	21,5	12,7	994	3374	3622	155	158	171
$s_{\bar{x}}$	8,5	15	110	4,1	1,2	147	348	322	6,7	22,2	23,5
s_x	25,5	47,3	346	12,8	3,7	466	1099	910	17,8	70,1	74,2
VK	20,1	30,1	54,0	59,3	29,1	46,9	32,6	25,1	11,5	44,4	43,4
n	9	10	10	10	10	10	10	8	7	10	10
Alkohol-induz. Hyperlip.											
$\bar{x}$	191	177	977	47,3	21,9	1341	4350	5380	173	166	110
$s_{\bar{x}}$	18	23	110	1	2,8	233	548	966	82,2	73,3	59,6
s_x	44,3	56,4	269	1,8	6,4	570	1096	2366	184	147	119
VK	23,1	31,8	27,5	3,9	29,2	42,5	25,1	43,9	106	88	108
n	6	6	6	3	5	6	4	6	5	4	4
Nephrotisches Syndrom											
$\bar{x}$	211	220	1500	50,2	17	1591	6097	6643	312	289	209
$s_{\bar{x}}$	11,9	17,2	305	4,5	2,8	288	957	1466	44,6	50,9	47,5
s_x	29,1	45,5	808	10	6,9	763	2530	3877	89,1	125	126
VK	13,7	20,6	53,8	19,9	40,5	47,9	41,4	58,3	28,5	43,1	59,9
n	6	7	7	5	6	7	7	7	4	6	7
Adip. Hyperlipidämie											
$\bar{x}$	111	164	801	40	11,9	1087	2705	4217	181	168	146
$s_{\bar{x}}$	19,3	17,8	122	10,9	0,9	207	305	373	40	27,6	20,8
s_x	51	56,4	386	32,8	2,8	653	863	1813	113	82,8	58,9
VK	45,4	34,3	48,1	81,9	2,5	60	31,9	42,9	62,3	49,2	40,4
n	7	10	10	9	9	10	8	10	8	9	8
Diab. Hyperlipidämie											
$\bar{x}$	113	155	1247	29	19,1	742	3504	5608	159	135	137
$s_{\bar{x}}$	21,2	18	190	10	3,0	60	401	841	41	41,2	49,3
s_x	42	40	384	21	6,0	126	828	1749	95	95	95,9
VK	37,2	25,8	30,8	69	31,4	16,8	23,6	31,1	58,5	69,4	68,1
n	4	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4
Diabetes											
$\bar{x}$	200	209	1634	74,6	21	1290	5569	8354	159	330	254
$s_{\bar{x}}$	39,7	22	135	12,2	2,7	118	840	1037	33,9	88,4	62
s_x	126	72,8	426	38,7	8,5	390	2785	3112	102	217	186
VK	62,7	34,8	26,1	51,9	40,5	30,2	50	37,3	52,1	65,6	73,2
n	10	11	10	10	11	11	11	9	9	6	9
Adipositas											
$\bar{x}$	102	167	1181	63,7	15,5	683	2615	5251	190	164	151
$s_{\bar{x}}$	14,8	21	216	4,7	2,6	80,2	336	406	23,5	20,2	19,8
s_x	49,1	72,8	717	14,9	8,2	266	1165	1347	77,9	63,8	62,4
VK	48,1	43,5	60,7	23,3	52,8	38,9	44,5	25,6	40,9	38,8	41,3
n	11	12	11	10	10	11	12	11	11	10	10
Diab. Adipositas											
$\bar{x}$	105	215	1283	47	13,9	812	3782	7906	243	240	199
$s_{\bar{x}}$	13,8	21,8	247	12,4	2,4	134	361	1115	54,2	23	42,2
s_x	30,8	48,7	553	27,6	5,4	299	806	2492	121	46	94
VK	29,2	22,6	43	58,8	38,6	36,8	21,3	31,5	49,6	19,2	47,1
n	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5

Die normalgewichtigen (46) Patienten weisen neben den pathologisch veränderten Serumlipidwerten kein weiteres Krankheitssymptom auf. Als untere Grenze für die Gesamtlipide setzten wir 1 200 mg% fest (Tab. 5).

Signifikante Erniedrigungen der Enzymspiegel im Vergleich zum Kontrollkollektiv finden sich bei den Enzymen

Glukose-6-Phosphatdehydrogenase:	P < 0,001
Hexokinase:	P < 0,001
Phosphofructokinase:	P < 0,025
Glycerin-3-Phosphatdehydrogenase:	P < 0,05
Malatdehydrogenase:	P < 0,0025

Alle anderen Enzyme, außer den leicht erhöhten Aktivitäten der Glutamatoxalacetattransaminase und Glutamatdehydrogenase, sind ebenfalls, allerdings nicht signifikant, vermindert.

b) Alkoholinduzierte Hyperlipidämie:

Alle 6 von uns untersuchten Patienten zeigen reproduzierbar auf Alkoholkonsum hin einen hochsignifikant über den Normbereich hinaus gesteigerten Serumlipidspiegel (Tab. 6).

c) Alkoholinduzierte Hyperlipidämie - Normalkollektiv:

Gegenüber dem Normalkollektiv ergibt sich nur bei der verminderten

Hexokinase: mit $P < 0,05$
eine signifikante Veränderung. Nicht signifikant vermindert sind:

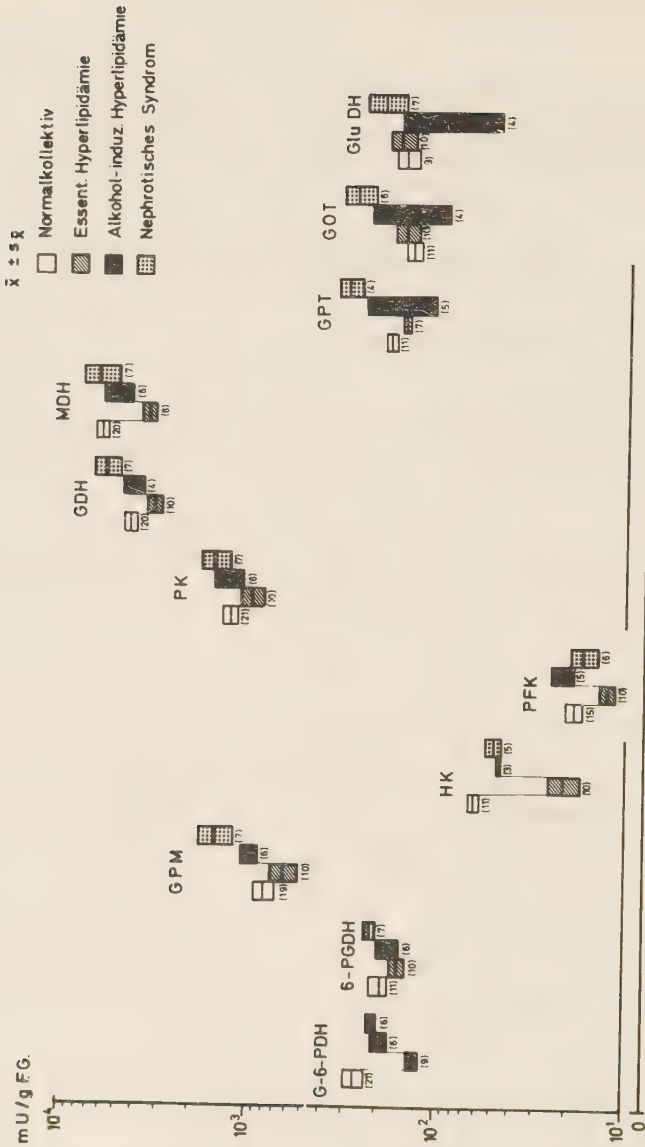


Abb. 3: Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe bei Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie, Alkohol-induzierter Hyperlipidämie und Nephrotisches Syndrom im Vergleich zu Normalwerten. Fallzahl n in Klammern. Angegeben sind der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung des Mittelwertes s_x .

Glukose-6-Phosphatdehydrogenase,
6-Phosphoglukonatdehydrogenase,
Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase,
Malatdehydrogenase,
Glutamatpyruvattransaminase und
Glutamatdehydrogenase.

Die Enzymspiegel der Glukophosphomutase, Phosphofructokinase, Pyruvatkinase und Glutamatoxalacetattransaminase weisen eine leichte Erhöhung auf:

β) Alkoholinduzierte Hyperlipidämie - Essentielle Hyperlipidämie:

Im Vergleich zur Essentiellen Hyperlipidämie sind folgende Enzymaktivitäten signifikant heraufgesetzt:

Glukose-6-Phosphatdehydrogenase:	P < 0,025
Glukophosphomutase:	P < 0,05
Hexokinase:	P < 0,025
Phosphofruktokinase:	P < 0,025
Malatdehydrogenase:	P < 0,05.

Alle übrigen Enzymspiegel sind ebenfalls, jedoch nicht signifikant angestiegen (ausgenommen die Glutamatdehydrogenase).

c) Nephrotisches Syndrom:

Bei den Patienten mit Nephrotischem Syndrom sind die folgenden vier Kriterien erfüllt (Tab. 7):

- 1) Proteinurie 1 g/24 Stunden,
- 2) Gesamteiweiß im Serum unter 6 g%
oder Albumin unter 3 g%,
- 3) Ödeme,
- 4) Gesamtlipide über 1 000 mg%
oder Gesamtcholesterin über 250 mg%.

α) Nephrotisches Syndrom - Kontrollkollektiv:

Bei dieser Diagnose ist ebenfalls die

Hexokinase mit $P < 0,025$

im Vergleich zu den Kontrollwerten erniedrigt.

Signifikante Erhöhungen zeigen die

Glukophosphomutase: $P < 0,01$

Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase: $P < 0,05$

Glutamatpyruvattransaminase: $P < 0,005$

Glutamatoxalacetattransaminase: $P < 0,005$

Nicht signifikant gesteigerte Aktivitäten finden sich bei allen übrigen Enzymen mit Ausnahme der Glukose-6-Phosphatdehydrogenase und Phosphofruktokinase, deren Enzymspiegel leicht erniedrigt sind.

β) Nephrotisches Syndrom - Essentielle Hyperlipidämie:

Gegenüber der Essentiellen Hyperlipidämie sind alle Enzymaktivitäten angestiegen, davon folgende signifikant:

Glukose-6-Phosphatdehydrogenase: $P < 0,001$

6-Phosphoglukonatdehydrogenase: $P < 0,01$

Glukophosphomutase: $P < 0,005$

Hexokinase: $P < 0,025$

Pyruvatkinase: $P < 0,05$

Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase: $P < 0,005$

Malatdehydrogenase: $P < 0,05$

Glutamatpyruvattransaminase: $P < 0,0025$

Glutamatoxalacetattransaminase: $P < 0,01$

Zusammenfassung:

Essentielle Hyperlipidämie:

Das Enzymmuster der Essentiellen Hyperlipidämie ist im Vergleich zum Normalkollektiv erniedrigt, besonders stark die Enzyme der Glykolyse (Hexokinase und Phosphofruktokinase),

der Coenzymbereitstellung (Glucose-6-Phosphatdehydrogenase und Malatdehydrogenase) und der α -Glycerophosphat-Bildung (Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase).

A l k o h o l i n d u z i e r t e H y p e r l i p i d - ä m i e :

Patienten mit einer alkoholinduzierten Hyperlipidämie haben außer einer verminderten Hexokinase ein normales Enzymmuster.

N e p h r o t i s c h e s S y n d r o m :

Das Nephrotische Syndrom zeichnet sich durch ein erhöhtes Enzymaktivitätsmuster aus, in dem besonders die signifikant veränderten Enzyme Glukophosphomutase (Glykogenstoffwechsel), Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase (α -Glycerophosphat-Bereitstellung) und die Glutamatpyruvattransaminase und Glutamatoxalacetattransaminase (Transaminierung) auffallen.

3. Normalkollektiv - Essentielle Hyperlipidämie - Adipositas + Hyperlipidämie - Adipositas:

In der Abbildung 4 haben wir neben dem Kontrollkollektiv Patienten mit Adipositas, mit adipöser Hyperlipidämie und Essentieller Hyperlipidämie zusammengestellt.

a) Adipositas+Hyperlipidämie:

Die adipösen Hyperlipämiker weisen wie die Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie Gesamtlipide über 1 000 mg% und Triglyceride über 150 mg% im Serum und ein Gewicht von mindestens 120 % des Idealgewichtes auf (Tab. 8).

α) Adipositas+Hyperlipidämie - Normalkollektiv:

Bei adipösen Patienten mit Hyperlipidämie finden wir signifikante Veränderungen der Enzymspiegel im Vergleich zum Normalkollektiv bei

Glukose-6-Phosphatdehydrogenase:	P < 0,001
Hexokinase:	P < 0,025
Phosphofruktokinase:	P < 0,01
Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase:	P < 0,005
Malatdehydrogenase:	P < 0,005

Alle übrigen Enzyme, außer der Glutamatoxalacetattransaminase, weisen eine nicht signifikante Aktivitätsminderung auf.

β) Adipositas+Hyperlipidämie - Essentielle Hyperlipidämie:

Im Vergleich zur Essentiellen Hyperlipidämie finden sich keine signifikanten Unterschiede.

b) Adipositas:

Die Patienten hatten ein Körpergewicht von mindestens 120 % des Idealgewichtes; alle klinischen Werte und Tests waren im Normbereich (Tab. 9).

α) Adipositas - Normalkollektiv:

Bei Patienten mit reiner Adipositas stellten wir in der Gegenüberstellung zum Normalkollektiv folgende signifikante Aktivitätserniedrigungen fest:

Glukose-6-Phosphatdehydrogenase:	P < 0,001
Pyruvatkinase:	P < 0,0025
Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase:	P < 0,0025

$\bar{x} \pm s$

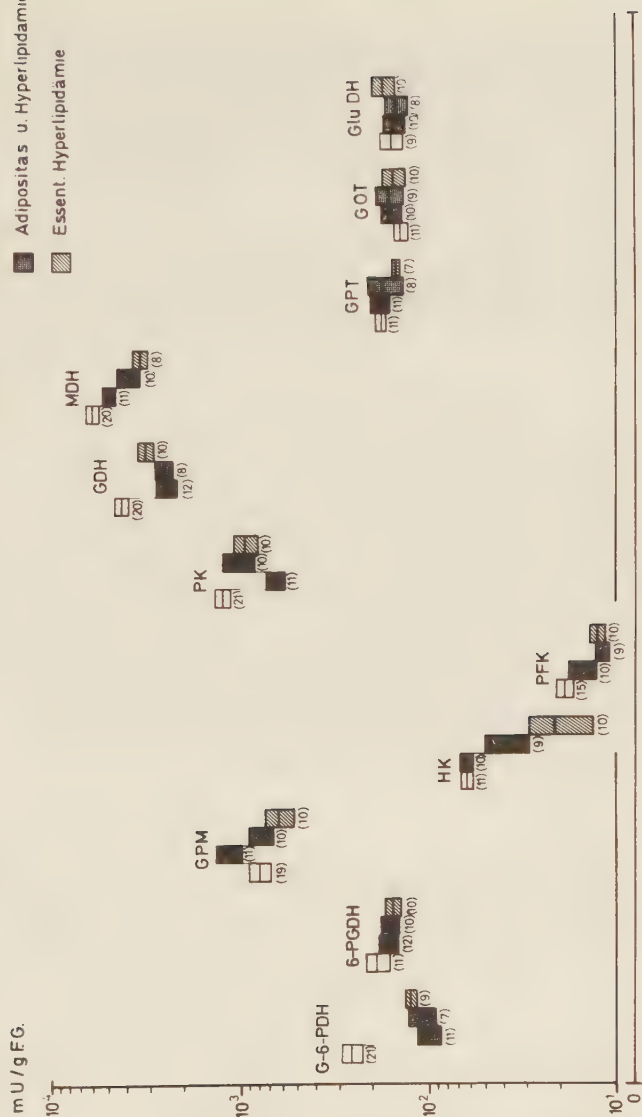


Abb. 4: Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe bei Patienten mit Adipositas, Adipositas+Hyperlipidämie und Essentieller Hyperlipidämie im Vergleich zu Normalwerten. Fallzahl n in Klammern. Angegeben sind der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$.

Alle übrigen Enzymwerte sind ebenfalls verringert:
Die Glutamatoxalacetattransaminase und Glutamatdehydrogenase weisen einen etwa gleichen Enzymspiegel auf. Bemerkenswert ist die (nicht signifikante) Erhöhung der Glukophosphomutase von 810 auf 1 181 mU/g Frischgewicht.

β) Adipositas - Adipositas+Hyperlipidämie:

Bei einem Vergleich des Adipositas- und des Adipositas+Hyperlipidämie-Kollektives zeigen sich keine signifikanten Unterschiede.

Zusammenfassung:

A d i p o s i t a s :

Das Enzymaktivitätsmuster bei Patienten mit Adipositas zeigt eine Erniedrigung gegenüber dem Kontrollkollektiv. Die Aktivitäten der für die Lipogenese wichtigen Enzyme Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase (α -Glycerophosphat-Bereitstellung) und Glukose-6-Phosphatdehydrogenase (NADPH-Bildung) sind signifikant verringert. Die Glukophosphomutase-Konzentration (Glykogenstoffwechsel) ist um 50 % gesteigert.

A d i p o s i t a s + H y p e r l i p i d ä m i e :

Die bei adipösen Patienten mit Hyperlipidämie gefundenen Enzymmusteränderungen stellen ein Mischbild von Essentieller Hyperlipidämie und Adipositas dar.

4. Normalkollektiv - Diabetes - Diabetes+Hyperlipidämie -
Essentielle Hyperlipidämie:

Abbildung 5 zeigt die Unterschiede von Patienten mit diabetischer Hyperlipidämie gegenüber dem Normalkollektiv,

dem Diabetes mellitus ohne erhöhte Serumlipide und Essentieller Hyperlipidämie.

a) Diabetes:

Bei allen Patienten liegt ein manifester Diabetes vor. Als untere Grenze des Blutglukosewertes im Nüchternserum setzten wir 150 mg% fest (Tab. 11).

α) Diabetes - Normalkollektiv:

Bei Patienten mit einem Diabetes mellitus finden wir im Vergleich zum Normalkollektiv-außer den nicht signifikant erniedrigten Glukose-6-Phosphatdehydrogenase und Pyruvatkinase- alle Enzyme erhöht, davon signifikant:

Glukophosphomutase:	$P < 0,001$
Glutamatoxalacetattransaminase:	$P < 0,05$

β) Diabetes - Diabetes+Hyperlipidämie:

Alle Enzymaktivitäten der diabetischen Hyperlipidämie sind gegenüber dem Diabetes ohne Hyperlipidämie deutlich erniedrigt. Eine Signifikanz fand sich jedoch nur bei der

Pyruvatkinase:	$P < 0,01.$
----------------	-------------

γ) Diabetes - Essentielle Hyperlipidämie:

Bei einem Vergleich des Diabetes mit der Essentiellen Hyperlipidämie ergeben sich für das letztgenannte Kollektiv signifikante Enzymspiegel-Erniedrigungen bei

Glukophosphomutase:	$P < 0,001$
Hexokinase:	$P < 0,001$
Phosphofruktokinase:	$P < 0,01$
Malatdehydrogenase:	$P < 0,001$
Glutamatoxalacetattransaminase:	$P < 0,05$

Alle übrigen Aktivitäten sind ebenfalls, allerdings nicht signifikant, vermindert.

Abb. 5: Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe bei Patienten mit Diabetes, Diabetes+Hyperlipidämie und Essentieller Hyperlipidämie im Vergleich zu Normalwerten. Fallzahl n in Klammern. Angegeben sind der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$.

b) Diabetische Hyperlipidämie:

Neben einem klinisch gesicherten manifesten Diabetes sind die Lipidfraktionen im Serum pathologisch verändert:
Aus Vergleichsgründen nahmen wir nur Patienten mit mindestens

300 mg% Triglyceride bzw.
1 200 mg% Gesamtlipide und
150 mg% Glukose im Nüchternserum
in das Kollektiv auf (Tab. 10).

α) Diabetes+Hyperlipidämie - Normalkollektiv:

Patienten mit Diabetes+Hyperlipidämie zeigen ein gegenüber dem Normalkollektiv erniedrigtes Enzymmuster.

Signifikant herabgesetzt ist die

Pyruvatkinase: $P < 0,05$

Eine Ausnahme bildet der nicht signifikante Anstieg der
Glukophosphomutase mit: $P < 0,1$

β) Diabetes+Hyperlipidämie - Essentielle Hyperlipidämie:

Diabetische Hyperlipämiker weisen ein ähnliches Enzymmuster auf, wie die Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie, deren Enzyme

Glukophosphomutase: $P < 0,05$

Phosphofruktokinase: $P < 0,05$

Malatdehydrogenase: $P < 0,05$

gegenüber dem zuerst genannten Kollektiv erniedrigt gefunden werden.

Zusammenfassung:

D i a b e t e s :

Gegenüber dem Normalkollektiv ist das Enzymmuster des Diabetes mellitus durch einen allgemeinen Anstieg der

Enzymaktivitäten (signifikant bei Glukophosphomutase und Glutamatoxalacetattransaminase) gekennzeichnet.

D i a b e t e s + H y p e r l i p i d ä m i e :

Eine zusätzliche Hyperlipidämie verändert die Enzymspiegel in Richtung auf das für die Essentielle Hyperlipidämie typische Enzymmuster.

c) Lipolyse und Phosphodiesterase bei Diabetes:

Die lipolytische Aktivität der hormonempfindlichen Triglyceridlipase (Proportional der Glycerinfreisetzung) ist von der Konzentration des 3', 5'-Adenosinmonophosphates abhängig (18, 146), das von der Phosphodiesterase II zu 5'-Adenosinmonophosphat inaktiviert wird. Wir finden im Fettgewebe der Diabetiker ohne Hyperlipidämie signifikant (B, IV, 3 a und b) die Phosphodiesterase-Aktivität herabgesetzt und die Glycerin-Lipolyse erhöht (Tab. 3).

5. Normalkollektiv - Diabetes - Diabetes+Adipositas - Adipositas:

In Abbildung 6 haben wir dem Normalkollektiv Patienten mit Diabetes, mit Adipositas und diabetischer Adipositas gegenübergestellt.

a) Diabetes+Adipositas:

Die adipösen Diabetiker sind mit mindestens 120 % Übergewichtig (46) und weisen nüchtern einen Blutzucker von mindestens 150 mg% auf (Tab. 12).

K o n t r o l l e D i a b e t e s

PDE (B, I, 3, c ¹⁷) (Aktivität in mU/g FG)							
n	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	2 P	n	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	
14	9,0	1,1	0,05	8	5,4	0,9	
=====							
Lipolyse							
6	0,053	0,008	0,05	7	0,122	0,026	
(μ Mol Glycerin/100 mg fettgewebe x 3 h)							

Tabelle 3: Aktivitäten der Phosphodiesterase (PDE) und der Glycerinlipolyse bei Patienten mit Diabetes im Vergleich zu Normalwerten.
n = Fallzahl. Angegeben sind der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$. 2 P siehe B, IV, 3a und b.



Abb. 6: Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe bei Patienten mit Diabetes, Diabetes+Adipositas, und Adipositas im Vergleich zu Normalwerten. Fallzahl n in Klammern. Angegeben sind der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$.

α) Diabetes+Adipositas - Normalkollektiv:

Bei einem Vergleich mit den Kontrollwerten zeigt die verminderte

Glukose-6-Phosphatdehydrogenase $P < 0,05$
die einzige signifikante Veränderung. Erhöht sind die
6-Phosphoglukonatdehydrogenase,
Glukophosphomutase,
Malatdehydrogenase,
Glutamatpyruvattransaminase,
Glutamatoxalacetattransaminase und
Glutamatdehydrogenase,
herabgesetzt die
Hexokinase,
Phosphofructokinase,
Pyruvatkinase und
Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase.

β) Diabetes+Adipositas - Diabetes:

Adipöse Diabetiker haben gegenüber den Normalgewichtigen mit Ausnahme der leicht erhöhten 6-Phosphoglukonatdehydrogenase und Glutamatpyruvattransaminase ein erniedrigtes Enzymmuster, wobei sich eine Signifikanz bei der
Pyruvatkinase: $P < 0,05$
zeigt.

γ) Diabetes+Adipositas - Adipositas:

Adipöse Diabetiker haben, verglichen mit adipösen Patienten ohne Diabetes, mit Ausnahme der herabgesetzten Hexokinase und Phosphofructokinase, ein erhöhtes Enzymmuster.

Eine Signifikanz zeigt die

Malatdehydrogenase: $P < 0,05$

mU/100mg FG

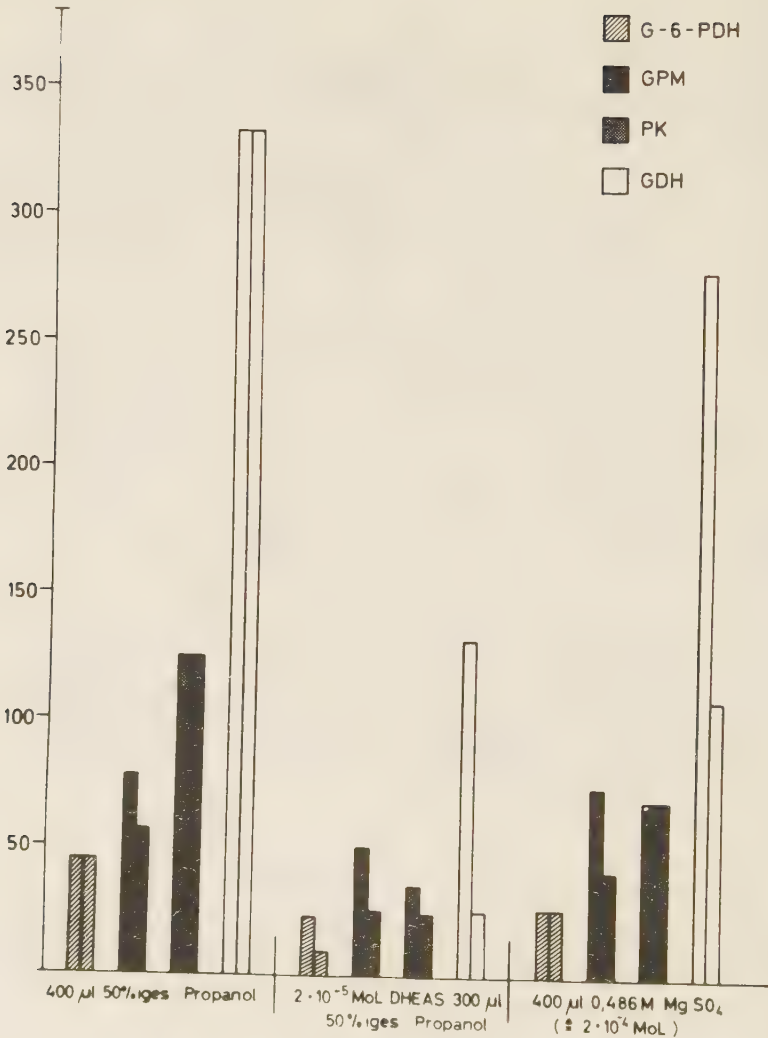


Abbildung 7: In vitro-Einfluß von Propanol, Dihydroepiandrosteron-sulfat (DHEAS) und MgSO₄ auf Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe des Menschen.
 Linke Säule: Aktivität ohne Zusatz der jeweiligen Substanz.
 Rechte Säule: Aktivität mit Zusatz der jeweiligen Substanz.
 Fallzahl n = 2.

b) Adipositas - Diabetes:

Bei Adipositas sind gegenüber dem Diabetes folgende Enzymaktivitäten signifikant herabgesetzt:

Glukose-6-Phosphatdehydrogenase:	P < 0,0005
Glukophosphomutase:	P < 0,05
Pyruvatkinase:	P < 0,005
Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase:	P < 0,0025
Malatdehydrogenase:	P < 0,005
Glutamatoxalacetattransaminase:	P < 0,025

Zusammenfassung:

D i a b e t e s + A d i p o s i t a s :

Ein Mischbild von Diabetes und Adipositas stellt das Enzymaktivitätsmuster der Patienten mit beiden Diagnosen dar: Fast alle Enzymaktivitäten liegen zwischen dem des Diabetes- und dem des Adipositas-Kollektives.

6. Therapie:

a) Küvettenversuche:

In Küvettenversuchen prüfen wir die in vitro-Wirkung des Dehydroepiandrosteron in der Sulfatform auf Enzymaktivitäten (Abb. 7). Parallel dazu untersuchen wir den Einfluß der Sulfationen und des verwendeten Lösungsmittels Propanol. Wir können bei der Glukose-6-Phosphatdehydrogenase, Glukophosphomutase, Pyruvatkinase und Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase eine Hemmung der Enzymaktivität nachweisen.

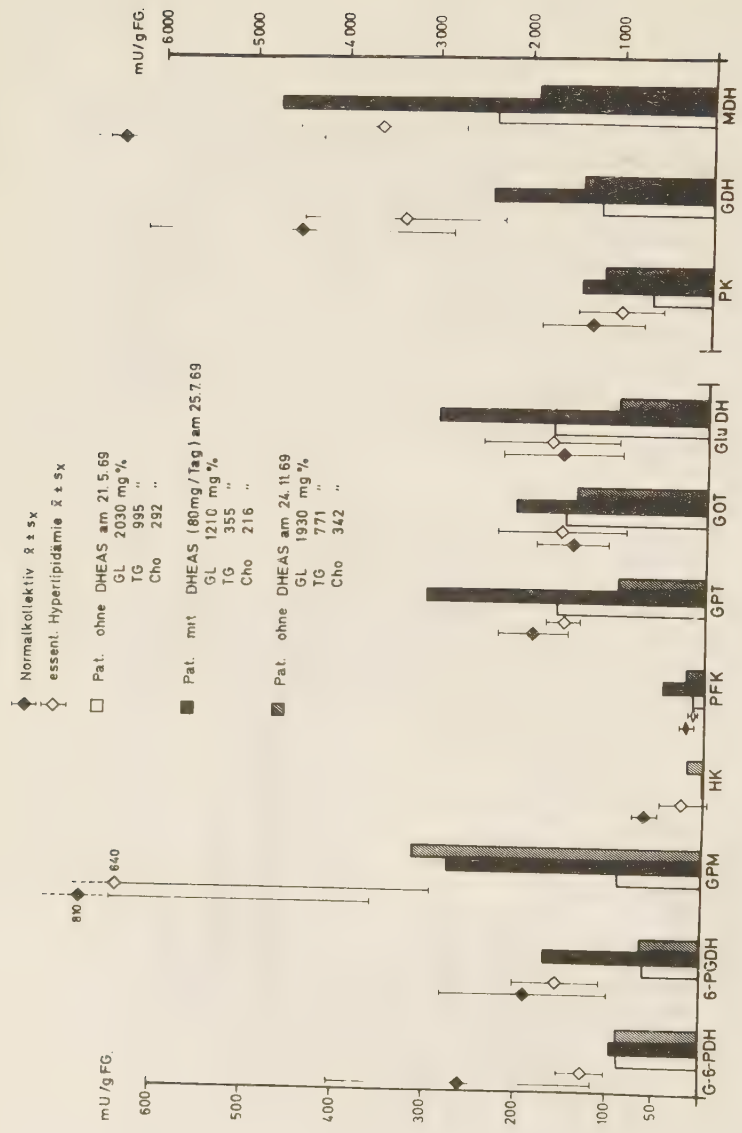


Abb. 8: In vivo-Einfluß von Dihydroepiandrosteronsulfat auf Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe eines Patienten. Die Säulen zeigen die Aktivitäten ohne, mit und wiederum ohne Therapie. Zum Vergleich sind der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung des Mittelwertes s_x von dem Normalkollektiv und Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie eingezeichnet.

Während bei der Glukose-6-Phosphatdehydrogenase (50 %) und Pyruvatkinase (70 %) die Hemmung eindeutig auf das Dehydroepiandrosteron zurückzuführen ist, zeigen sich bei den beiden anderen Enzymen auch Beeinflussungen durch Propanol und das Magnesiumsulfat: Bei der Glukophosphomutase können wir mit den beiden Substanzen eine 30, bzw. 50 %ige Hemmung feststellen, so daß die 50 %ige Hemmung bei Dehydroepiandrosteron durch diese Substanz bedingt sein kann. Mit Dehydroepiandrosteron geht die Aktivität der Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase auf 20 % des Normalwertes zurück, mit Magnesium-Sulfat nur auf ca. 40 %, während das Propanol allein keine Wirkung zeigt.

b) In vivo-Versuche:

Fünf Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie (z.T. adipös) wurden (mindestens einen Monat lang) mit D e h y - d r o e p i a n d r o s t e r o n - S u l f a t (133) behandelt (80 mg/die). In vivo führt das Medikament nur bei einem Patienten zur Normalisierung des Enzymmusters (Abb. 8). Während bei diesem Patienten auch eine signifikante Senkung des Serumlipidspiegels nachweisbar ist, zeigen die übrigen Patienten weder bei den Enzymen, noch bei den Lipidfraktionen eine Ansprechbarkeit (Tab. 5 u. 8).

Bei 3 Patienten, die mit R e g e l a n (134) behandelt worden sind, zeigt sich zwar eine signifikante Senkung der Serumlipide (Tab. 5 u. 8), jedoch läßt sich kein Einfluß auf die Enzymaktivitäten nachweisen.

7. Gehalt an löslichem Protein:

Die Menge des extrahierbaren Proteins - als Hinweis auf die Größe des stoffwechselaktiven Zellkompartimentes (25) - ist für die einzelnen Diagnosen in Tabelle 4 zusammengestellt. Während im allgemeinen bei den verschiedenen Stoffwechselstörungen der Proteingehalt im Fettgewebe in der gleichen Größenordnung gefunden wird, stellen wir bei den drei Kollektiven mit adipösen Patienten ein relativ niedriges Extraktprotein fest: Als einziges liegt es unter 20 mg/g Frischgewicht.

II. KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN

Die klinischen Untersuchungen wurden an 66 Patienten (33 weiblich, 33 männlich) durchgeführt; einige Patienten wurden mehrfach untersucht.

In den Tabellen 5 bis 12 sind chemische Untersuchungen des Blutes und Harnes zusammengestellt. Aus den Krankenblättern der I. und II. Medizinischen Klinik wurden die Symptome der von uns untersuchten Patienten ergänzt. Mit Ausnahme der Diabetiker (Diät) und des Patienten Ch.B. (Nephrotisches Syndrom; proteinreiche Ernährung) unterlagen die Patienten keinen Diätvorschriften. Zum Zeitpunkt der Fettgewebsexzision wurde die Hyperlipidämie nicht behandelt.

Bei den einzelnen Patientenkollektiven wurde aus den Einzelwerten der jeweilige Mittelwert $\bar{x}$ und die mittlere Abweichung des Einzelwertes $s_{\bar{x}}$ errechnet.

	n	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Kontrollkollektiv	21	21	1,3
Essentielle Hyperlipidämie	10	21	4,1
Alkohol-induz. Hyperlipidämie	6	21	4,0
Nephrotisches Syndrom	7	23,5	2,1
Diabetische Hyperlipidämie	5	22	0,9
Diabetes	11	20	1,7
Adipöse Hyperlipidämie	10	19	1,9
Adipositas	12	18	2,3
Diabetes + Adipositas	5	18,5	3,1

- 62 -

Tabelle 4: Gehalt an löslichem Extraktprotein (mg/g Frischgewicht) des subcutanen Fettgewebes bei den untersuchten Patientenkollektiven. Angegeben sind die Fallzahl n, der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$.

Name	Alter	Geschlecht	Gesamt- Lipide mg%	Triggly- Ceride mg%	Gesamt- Cholester- in mg%	Freie Fettsäuren mval/l
H.B.	41	♂	2280	1050	388	--
			(DHEAS 1210	355	216	--
			(ohne DHEAS 1930	771	342)	--
A.R.	63	♂	4650	2320	472	--
L.R.	60	♂	1290	330	309	1,04
			(REGELAN 880	174	198	--)
I.S.	57	♀	2440	1000	272	2,28
J.H.	46	♂	1240	180	366	1,32
			(DHEAS 1300	192	388)	--
H.K.	39	♂	1580	306	268	--
			(DHEAS 1490	520	143)	--
H.H.	36	♂	1980	--	--	--
F.H.	31	♂	1200	264	174	1,21
H.M.	50	♂	4040	3505	704	1,00
H.B.	41	♂	1930	566	213	--
$\bar{x} \pm Sx:$	46,4 $\pm$ 10,8		2299 $\pm$ 1250	1057 $\pm$ 1136	352 $\pm$ 161	1,37 $\pm$ 0,52

=====

Tabelle 5:

Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie

Therapie mit Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS)

Name	Alter	Ge- schlecht	Gesamt- Lipide mg%	Trigly- ceride mg%	Gesamt- Cholesterin mg%	Freie Fett- säuren mval/l	SGPT mU/ml	SGOT mU/ml	Gesamt- Bilirubin mg%	Alkalische Phosphatase mU/ml	Gamma- Globulin %	Leber- Alkohol- größe Konsum/ die
T.K.	27	♂	1790	150	650	0,95	15,4	22,70	3,08	9,9	18	10 ⁺ 2-4 l Bier
H.S.	49	♂	1140	154	500	1,27	20,4	45,4	1,21	27,6	17,5	14 3-4 l Bier
J.E.	39	♂	1180	115	620	--	24,9	22,2	1,20	57	25	10 2-3 l Bier höher flüge Alko- holika
K.T.	29	♀	5320	3282	524	2,81	14,8	19,7	0,62	46	--	10 2-3 l Bier + ca. 5 Schnäpse
E.M.	45	♂	2440	1451	426	2,58	28	14	--	36	18	12 2-4 l Bier
T.K.	28	♂	2490	--	1000	1,64	27,5	37,1	4,66	89	21	10 mindestens 1 Flasche Rotwein

I + St: 36,2[±]9,5 2391[±]1548 1030[±]1381 620[±]203 1,85[±]0,81 21,3[±]5,4 27,5[±]13,2 2,2[±]1,7 44,3[±]27 20,0[±]3,2

Tabelle 6:

Patienten mit Alkohol-induzierter Hyperlipidämie

+) Lebergröße in cm unter dem Rippenbogen

Name	Alter	Geschlecht	Gesamt- Lipide mg%	Trigly- ceride mg%	Gesamt- Cholesterin mg%	Freie Fett- säuren mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff-N mg%	Ödeme	Gesamt- eiweiß g%	Albumin %	Protein- urie g / 24 h
T.M.	36	♀	2490	530	725	0,68	0,9	18	++	4,25	29	4,6-5
C.B.	24	♀	3300	890	936	0,88	9,8	57	++	3,44	18	3-8
J.B.	34	♂	1710	--	440	--	--	--	+	5,55	30	2,5-4
O.O.	42	♂	--	--	340	--	0,95	10	+	5,92	55	2,9
R.H.	54	♀	2540	--	480	--	1,7	16	+++	5,14	33	3,9-8,3
P.B.	57	♂	1750	470	296	0,48	1,5	19	++++	4,55	40	7,4
P.M.	54	♀	1460	--	262	--	3,6	--	++	5,1	43	2,4-4,1
$\bar{x} \pm Sx$: 43 [±] 12			2152 [±] 759	630 [±] 227	497 [±] 248	0,68 [±] 0,2	3,1 [±] 3,4	24 [±] 19		4,9 [±] 6,8	35 [±] 12	

Tabelle 7:

Patienten mit Nephrotischem Syndrom

Name	Alter	Geschlecht	Gesamt- lipide mg%	Trigly- ceride mg%	Gesamt- Cholesterin mg%	Freie Fettsäuren mval/l	% des Normal- gewichts
M.B.	65	♀	1190	310	153	0,62	162
M.W.	56	♀	1490	315	234	1,02	133
M.L.	47	♂	1220	404	197	--	121
		(REGELAN	930	204	182)	--	121
E.W.	40	♂	2320	770	504	1,94	--
E.W.	58	♀	1260	160	358	--	174
		(DHEAS	1220	250	181)	--	--
A.B.	44	♂	5040	2480	800	1,25	136
J.B.	40	♂	1370	250	--	0,89	126
H.K.	43	♂	1520	206	380	2,36	130
		(DHEAS	1180	198	349	--	130
J.A.	34	♂	1410	475	233	--	132
		(REGELAN	920	159	244)	--	132
F.S.	57	♂	1340	245	298	1,49	164
$\bar{x} \pm Sx: 48,3^{+9,9}$			1806 $\pm$ 1184	554 $\pm$ 700	462 $\pm$ 398	1,31 $\pm$ 0,72	145 $\pm$ 19
=====							

Tabelle 8:

Patienten mit Adipositas und Hyperlipidämie

Therapie mit Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS) / Therapie mit REGELAN

Name	Alter	Geschlecht	Gesamt- lipide mg%	Trigly- ceride mg%	Gesamt- Cholesterin mg%	Freie Fettsäuren mval/l	% des Normal- gewichts
L.K.	29	♀	650	90	120	0,41	211
O.B.	55	♂	880	174	198	--	126
A.H.	50	♀	730	--	--	0,83	154
A.M.	46	♀	950	116	189	0,43	172
E.H.	29	♀	820	285	195	1,11	193
U.R.	65	♀	910	--	--	--	172
J.P.	57	♂	920	156	258	--	121
A.P.	53	♀	1000	--	--	--	177
C.D.	68	♀	670	--	--	--	>120
A.B.	68	♀	800	--	--	--	>120
A.M.	33	♂	910	134	190	--	139
W.D.	55	♂	730	--	120	--	128
$\bar{x} \pm Sx:$	51 $\pm$ 33		831 $\pm$ 116	134 $\pm$ 56	181 $\pm$ 48	0,70 $\pm$ 0,34	164 $\pm$ 28

Tabelle 9:

Patienten mit Adipositas

Name	Alter	Geschlecht	Blutzucker mg%	Glukosurie	Gesamt- lipide mg%	Trigly- ceride mg%	Gesamt- Cholesterin mg%	Freie Fettsäuren mval/l
O.P.	31	♂	248	+	2460	1110	418	2,06
A.B.	44	♂	270	+	5040	2480	800	1,25
A.K.	59	♀	290	+	1200	--	336	--
T.K.	56	♀	152	-	1520	464	370	--
A.M.	46	♀	155	-	1250	300	250	--

- 68 -

$\bar{x} \pm Sx:$ 47,2^{+11,1}

223^{+65,2}

2294⁺¹⁶¹⁷

1079⁺¹⁰⁰²

335⁺²¹³

=====

Tabelle 10:

Patienten mit Hyperlipidämie und Diabetes

Name	Alter	Geschlecht	Blutzucker mg%	Glukosurie
T.U.	44	♀	188	-
W.Z.	74	♀	168	-
J.P.	67	♂	150	-
T.K.	68	♀	238	+
F.H.	60	♂	168	-
J.S.	53	♂	250	+
M.S.	34	♀	360	+
T.G.	47	♀	260	-
E.P.	65	♀	264	+
E.U.	47	♀	364	+
A.K.	59	♀	290	+

$\bar{x} - ^+ Sx: 56,2 \pm 12,2$

$245 \pm 74,7$

=====

Tabelle 11:

Patienten mit Diabetes

Name	Alter	Geschlecht	Blutzucker mg%	Glukosurie	% des Normal- gewichts
E.P.	65	♀	264	+	151
A.M.	46	♀	155	-	172
C.D.	68	♀	150	-	158
T.G.	47	♀	260	+	160
R.K.	33	♀	225	-	161
$\bar{x} \pm Sx: 51,8^{+14,6}$			$211^{+55,4}$		$162^{+7,8}$

Tabelle 12:

Patienten mit Adipositas und Diabetes

D. DISKUSSION

Die Stoffwechselleistungen eines Gewebes lassen sich nach BÜCHER et al. (58, 95, 97, 98, 99, 100, 101, 140) mit Hilfe eines Enzymmusters ("biochemische Histologie"; 96) charakterisieren. Vorhandensein und Größe bestimmter Enzymaktivitäten machen qualitative und quantitative Aussagen über metabolische Besonderheiten eines Organ-
gewebes möglich (53).

Die von uns im Fettgewebe stoffwechselgesunder Probanden ermittelten Enzymaktivitäten ("Normalkollektiv") stimmen mit den in der Literatur angegebenen Werten überein (Tab. 13); dabei sind die jeweils für die Messung nur weniger Enzyme verwendeten, zum Teil erheblich unterschiedlichen Methoden der einzelnen Autoren zu berücksichtigen (35). Ein möglicher Einfluß der Narkose auf die Enzyme, wie er von SHONK et al. (122, II) und GALTON und BRAY (45) für das Fettgewebe diskutiert wird, konnte von unserer Arbeitsgruppe ausgeschlossen werden.

Bei normalernährten Patienten mit Hyperlipidämien verschiedener Genese haben wir im subcutanen Fettgewebe Enzymaktivitäten gemessen. Wir fanden dabei eine erhebliche Herabsetzung des oxydativen und anaeroben Kohlehydrat-Stoffwechsels (Abb. 2). Die für die Lipogenese im Humanfettgewebe entscheidende Glycerid-Glycerin-Synthese (39, 43, 44, 84) aus der Glukose könnte somit herabgesetzt sein, worauf auch der Abfall der Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase-Aktivität deutet (89). Auf die Bedeutung der Glycerophosphat-Oxidase, deren Hauptfunktion der Wasserstoff-Transport durch die Mitochondrienmembran

Autor	0-6-PDH	6-PGDH	HK	PFK	PK	GPM	GDH	MDH	GPT	OOT	GLUDH
eigene Unters. + 25°C	11,9 ^{+3,3} (260 ⁺¹⁴⁴) n = 21	10,2 ^{+3,0} (191 ⁺⁹¹) n = 11	2,6 ^{+0,4} (64 ^{+14,6}) n = 11	0,8 ^{+0,2} (19 ^{+7,3}) n = 15	55,4 ^{+28,5} (1300 ⁺⁵⁵⁸) n = 21	38,6 ^{+15,4} (810 ⁺⁴⁵⁰) n = 19	221 ⁺⁶⁵ (4500 ⁺¹⁶⁷⁰) n = 20	327 ⁺¹¹⁵ (6450 ⁺²¹⁹⁰) n = 20	10,9 ^{+4,6} (188 ⁺³⁹) n = 11	7,8 ^{+4,6} (146 ⁺³⁹) n = 11	8,4 ^{+3,1} (458 ⁺⁶⁵) n = 9
SCHMIDT & SCHMIDT (130) -	131 (1450) n = 6	91 (1240) n = 6	54,6 (728) n = 6		284 (3820) n = 6		315 (4260) n = 6	5360 (72300) n = 6	142 (1910) n = 6	380 (5130) n = 6	94,5 (1274) n = 6
SHONK & BOXER (140) + 24°C	(160 ⁺¹⁴⁰) n = 19		(160 ⁺¹¹⁰) n = 19	110 ⁺⁹⁰ n = 19	(2800 ⁺²⁶⁰⁰) n = 19	(230 ⁺¹⁹⁰) n = 19	(3500 ⁺²⁷⁰⁰) n = 19	(3800 ⁺²⁵⁰⁰) n = 19			
ENGLHARDT et al. (34) + 25°C	18 ⁺⁵ (64 ⁺¹⁸) n = 10		2,5 ^{+2,4} (8,5 ^{+7,7}) n = 10	1,4 ^{+0,5} (5,0 ^{+2,1}) n = 10	92 ⁺²⁶ (332 ⁺⁹³) n = 10	75 ⁺²⁶ (269 ⁺⁹⁵) n = 10					
SHRAGO et al. (141)	20,8 ⁺¹¹ n = 5							339 ⁺²⁰⁰			
TJABBES et al. (153) -	(117 ⁺¹¹⁵) n = 15										
BROWN et al. (14) -	(80) n = 4	(104) n = 4	(28) n = 4								

Tabelle 13: Literaturvergleich der Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe des Menschen. Aktivitäten in nMol Substrat/min./mg Extraktprotein (nMol Substrat/min./g Frischgewicht). Angegeben sind der Mittelwert $\bar{x}$, die Standardabweichung des Einzelwertes Sx und die Fallzahl n. Unter dem Autorennamen ist die Reaktionstemperatur eingetragen. Abkürzungen der Enzymnamen s.S.41, Legende der Tab.2.

ist (19), hat GALTON (44) hingewiesen. Ihre Rolle bei Veränderungen der GDH-Aktivität ist noch nicht endgültig geklärt. SHRAGO (124), GALTON (44) und BALLARD (5) haben gezeigt, daß im Fettgewebe Pyruvat als eine der Glukose durchaus gleichwertige Vorstufe für Glycerid-Glycerin anzusehen ist. Die ganz unerhebliche Aktivitätsänderung der Pyruvatkinase gibt uns jedoch keinen Hinweis auf eine vermehrte Umschaltung der Reaktionskette Glycerinaldehydphosphat $\longrightarrow$ Pyruvat auf Pyruvat $\longrightarrow$ Glycerinaldehydphosphat (3) über die Utter-Reaktion (138).

Gleichzeitig bedeutet die erniedrigte Aktivität des Pentose-Phosphat-Zyklus zusammen mit der signifikant herabgesetzten Malatdehydrogenase-Aktivität eine verminderte Coenzym-Bereitstellung (88, 147). Die fast unveränderten Aktivitätsgehalte der Transaminasen (Glutamatoxalacetattransaminase nur leicht erhöht) und der Glumatdehydrogenase scheinen eine starke Beeinflussung des Citratzyklus auszuschließen (96).

Die Frage nach Ursache und Wirkung im Wechselspiel "S e r u m l i p i d s p i e g e l - M e t a b o l i s m u s d e r F e t t z e l l e n" macht eine Differenzierung in einzelne Hyperlipidämieformen notwendig, zumal eine Korrelation zwischen der Konzentration und Zusammensetzung der Lipide im Serum und der Höhe der pathologisch veränderten Enzymaktivitäten nicht nachweisbar war (C, I, 1, c).

Man unterscheidet zwischen Primären (Essentiellen) und Sekundären (Symptomatischen) Hyperlipidämien.

Die Primären Hyperlipidämien lassen sich wieder in eine Exogene (fettinduzierte) sowie eine Endogene (Kohlenhydrat-

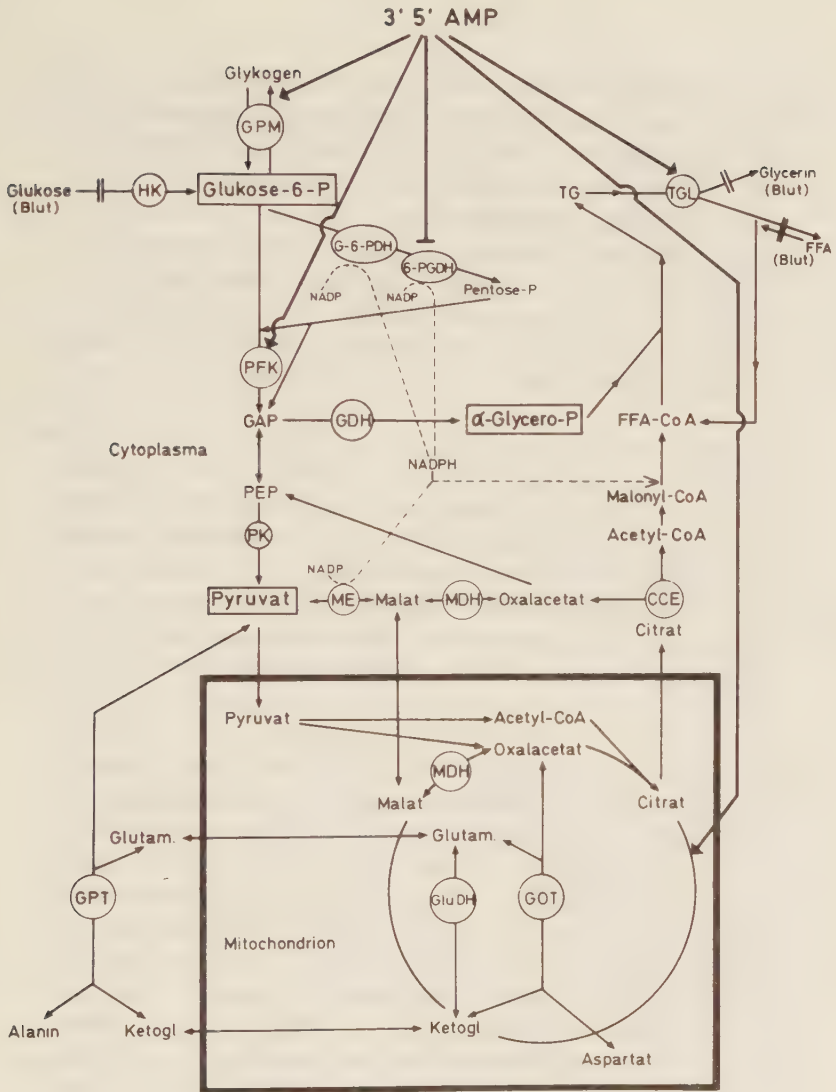


Abb. 9: Stoffwechselschema der Fettzelle in Anlehnung an STAUFFACHER (129), SENFT (118) und PETTE (96). Die von uns untersuchten Enzyme sind durch eine kreisförmige Umrahmung gekennzeichnet.
 3',5'-Adenosinmonophosphat - Aktivierung: $\longrightarrow$
 3',5'-Adenosinmonophosphat - Hemmung: $\dashrightarrow$

und Kalorieninduzierte, bzw. akzentuierte) Form einteilen (1). Als Ursache der fettinduzierten Hypertriglyceridämie (Hyperchylomikroämie; Typ I nach FREDERICKSON (40)) wird ein autosomal rezessiv vererbter Defekt im Lipoproteinlipase-System angenommen (41, 63). Bei der endogenen Hypertriglyceridämie dagegen (Triglyceride und Cholesterin erhöht) konnte keine Veränderung der Lipoproteinlipase nachgewiesen werden (1). Zur Diskussion stehen Überproduktion oder Verwertungsstörung der endogenen Triglyceride (15).

Die Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie, die keinen Diätvorschriften unterlagen, wurden durch serumelektrophoretische Untersuchungen dem Typ IV nach FREDERICKSON (40) zugeordnet. Bei allen Patienten waren Triglyceride, Cholesterin und Freie Fettsäuren über den Normbereich erhöht. Es ergab sich ein mit dem Gesamtkollektiv weitgehend übereinstimmendes Enzymmuster mit zum Teil stärkeren Signifikanzen (Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase) (Abb. 3).

Prinzipiell entsteht eine Hyperlipidämie dann, wenn es zu einem Mißverhältnis zwischen Triglycerid-Einstrom und Triglycerid-Klärung kommt (15). In Fettgewebe und Leber von Patienten mit Kohlenhydrat-induzierter Hyperglyceridämie fanden KUO et al. (83) unter kohlenhydratreicher Kost *in vitro* einen gesteigerten ^{14}C -Einbau aus Glukose, Fruktose und Acetat in die Glycerid-Fettsäuren; die Einbaurate in den Glycerin-Anteil war vermindert. BRECH und GORDON (15) und SANDHOFER et al. (114) wiesen bei Patienten mit dieser Hyperlipidämie-Form eine vermehrte Triglycerid-Synthese aus Glukose unter kohlenhydratreicher Diät *in vivo* nach.

Das Fettgewebe spielt für die Glukose-Verwertung quantitativ eine noch größere Rolle als das Lebergewebe (36a). Nach unseren Befunden ist bei normaler Ernährung Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie die Glukoseutilisation des Fettgewebes herabgesetzt. Eine kohlenhydratreiche Ernährung könnte daher bei Hyperlipidämien zu einer stärkeren Glukose-Belastung der Leber führen, als dieses bei gesunden Probanden der Fall ist. Dafür spricht auch eine erhebliche Senkung des Serumlipidspiegels bei fettreicher und kohlenhydratarmer Diät (15).

Neben der vermehrten Triglycerid-Synthese in der Leber ist auch eine verminderte Triglycerid-Assimilation durch das Fettgewebe als pathogenetischer Faktor für eine Hyperlipidämie zu diskutieren. Das Schwergewicht des Triglycerid-Transportes im Blut ist nicht auf die Energie verbrauchenden Organe, sondern auf das Fettgewebe hingerichtet (115a). Abgabe, bzw. Einbau der Neutralfette in das Fettgewebe erfolgt durch Hydrolyse der Triglyceride, die durch die hormonsensitive Triglyceridlipase bzw. Lipoproteinlipase eingeleitet wird (146). Die Lipoproteinlipase-Aktivitäten bewegen sich zwar bei der kohlenhydratinduzierten Hyperlipidämie im Normbereich (1, 40, 61), jedoch wird dadurch die Möglichkeit einer Störung der Triglycerid-Klärung nicht ausgeschlossen (15). Die bei der Assimilation entstehenden Freien Fettsäuren können nur mit endogenem α -Glycerophosphat verestert werden, da das bei der Hydrolyse entstehende Glycerin im Fettgewebe nicht zu α -Glycerophosphat aktiviert werden kann (148). Wir konnten das dafür notwendige Enzym Glycerokinase im Human-Fettgewebe nicht nachweisen. Unter physiologischen Bedingungen wird das Glycerid-Glycerin vorwiegend aus Glukose gebildet (109, 130, 144). Ein verminderter Glukose-Abbau im Fettgewebe könnte - im

Zusammenhang mit der erniedrigten Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase-Aktivität - eine verringerte Bereitstellung von α -Glycerophosphat bedeuten (70a), wenn auch Pyruvat an die Stelle von Glukose als Vorstufe dieses Substrates treten kann (5, 43, 50, 124).

Die Enzymaktivitätsmuster bei S e k u n d ä r e n H y p e r l i p i d ä m i e n sind für die Frage nach der pathogenetischen Beteiligung des Fettgewebes an den erhöhten Serumlipidspiegeln insofern von besonderer Bedeutung, als man für einige dieser Krankheitsformen einen nur außerhalb des Fettgewebes lokalisierten Defekt annimmt (115):

Als Ursache der A l k o h o l - i n d u z i e r t e n Hyperlipidämie diskutiert man heute eine gesteigerte hepatische Triglycerid-Synthese oder -Verwertungsstörung. Das Ausmaß der H y p e r l i p i d ä m i e bei N e p h r o t i s c h e m S y n d r o m ist der Hypalbuminämie proportional. Als Kompensation für die Protein-Verluste durch die Niere könnte es in der Leber zu einer vermehrten Protein- und Lipoprotein-Synthese kommen (115a). Ferner werden diskutiert: Eine Störung der Lipoproteinlipase und eine renale Regulationsstörung des Fettstoffwechsels (4).

Abbildung 3 zeigt für die Alkohol-induzierte Hyperlipidämie ebenso wie das Nephrotische Syndrom ein gänzlich anderes Enzymmuster als bei der Essentiellen Hyperlipidämie. Die Enzym Spiegel liegen fast alle im Bereich der Normalwerte, lediglich die Hexokinase ist leicht erniedrigt. Beim Nephrotischen Syndrom sind darüber hinaus noch einige Enzymaktivitäten signifikant erhöht: Eine vermehrte α -Glycerophosphat-Metabolisierung (Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase erhöht) könnte Ausdruck einer gesteigerten Reveresterungs-

rate des Fettgewebes bei Triglycerid-Anstieg im Blut sein (70a). Auf die Bedeutung des Glykogen als potentiellen α -Glycerophosphat-Lieferanten (42) hat BJÖRNTORP (11, 14) hingewiesen: Wir fanden die Glukophosphomutase beim Nephrotischen Syndrom erhöht. Eine erhöhte Konzentration der Transaminasen, Glutamatpyruvattransaminase und Glutamat-oxalacetattransaminase, und der Glutamatdehydrogenase im Fettgewebe spricht für eine gesteigerte Aminosäuremetabolisierung. Der Glukose-Toleranz-Test ist beim Nephrotischen Syndrom im Gegensatz zu den übrigen Hyperlipidämie-Formen normal (36, 74). Tatsächlich fanden wir bei dieser Erkrankung weder die Glykolyse im Fettgewebe herabgesetzt (wie bei der Essentiellen Hyperlipidämie), noch ist eine Leberschädigung wie bei der Alkohol-induzierten Hyperlipidämie nachweisbar (33, 142, 151).

Der Randle-Zyklus (105), der eine verminderte Glukoseaufnahme des Fettgewebes bei erhöhten Freien Fettsäuren annimmt, ist in seiner klinischen Bedeutung umstritten (115a). Obwohl auch das Fettgewebe der Patienten mit Alkohol-induzierter Hyperlipidämie und Nephrotischem Syndrom eine leichte Verminderung der Hexokinase-Aktivität (Glukose-Aufnahme) aufweist, zeigen unsere Enzymmuster (Shunt, Glykolyse) deutlich, daß er nicht als Erklärung für die pathologisch veränderten Enzymkonzentrationen ausreicht. Es ist daher nicht unwahrscheinlich, für die E s s e n - t i e l l e H y p e r l i p i d ä m i e eine Fehlregulation des Fettgewebsstoffwechsels als pathogenetisch mitbeteiligt anzunehmen, zumal bei allen drei Hyperlipidämie-Formen die Höhe und Zusammensetzung des Serumlipidspiegels annähernd gleich gefunden wurde.

Therapeutisch wurde bei Essentieller Hyperlipidämie das Medikament D e h y d r o e p i a n d r o s t e r o n - s u l f a t (DHEAS) in einigen Fällen erfolgreich zur

Senkung des Serumlipidspiegels angewandt. (36b). In Erythrozyten, Leber und in der Nebennierenrinde ist in vitro und in vivo eine Hemmung der Glukose-6-Phosphatdehydrogenase durch DHEAS nachgewiesen worden (133, 136). In Küvetten-Versuchen konnten wir diesen Befund für das Fettgewebe bestätigen; daneben fanden wir auch eine Erniedrigung der Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase und der Pyruvatkinase (Abb. 7). Während wir in vivo bei 4 Patienten weder eine Änderung der Lipidwerte noch der Enzymaktivitäten feststellten, konnten wir bei einem Patienten eine reproduzierbare Korrelation zwischen der Enzymnormalisierung und der Lipidsenkung feststellen (Abb. 8). Die Beseitigung der Hyperlipidämie bei 3 Patienten mit Clofibrat (Regelan) führte nicht zu einer Normalisierung des hyperlipämischen Enzymmusters: Auch dieser Befund spricht gegen ein lediglich adaptives Verhalten der Fettgewebsenzyme bei Hyperlipidämie.

TJABBES (135) und GALTON (45) haben bei a d i p ö s e n P a t i e n t e n im Vergleich zu Normalgewichtigen eine signifikante Verminderung der Glukose-6-Phosphatdehydrogenase bzw. der Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase nachgewiesen. Aus Fütterungsversuchen an Ratten sind weitere Enzymveränderungen (Hexokinase, Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase und Enzyme des Shunt vermindert) bei zunehmendem Körpergewicht bekannt (55, 56, 84). Wir haben deshalb alle Adipösen aus der Gruppe der Essentiellen Hyperlipidämie gesondert untersucht und einerseits dem Kontrollkollektiv, andererseits einem Kollektiv Adipositas ohne begleitende Hyperlipidämie gegenübergestellt. Für die letztgenannte Patientengruppe fanden wir im Fettgewebe ein charakteristisches Enzymmuster, das sich sowohl von dem des "Normalkollektives" als auch dem der drei besprochenen Hyperlipidämie-Formen unterscheidet: Die von

uns gefundenen Veränderungen der Enzymaktivitäten Glukose-6-Phosphatdehydrogenase und Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase stimmen mit den von TJABBES (135) und GALTON (45) angegebenen überein. Kennzeichnend für dieses Enzymmuster ist außerdem eine signifikant veränderte Glukophosphomutase (erhöht) und Pyruvatkinase (erniedrigt), während die anderen Enzymaktivitäten unwesentlich vermindert sind. Seit den Untersuchungen von HIRSCH et al. (65) ist bekannt, daß Fettleibigkeit in erster Linie zu einer Erhöhung der Zellzahl des Subkutanfettgewebes gegenüber einer vermehrten Triglycerid-Einlagerung in die einzelne Fettzelle führt. Dementsprechend ist der von uns gemessene Gehalt an löslichem Protein (als Hinweis auf das stoffwechselaktive Kompartiment der Fettzelle) (25) bei Adipösen gegenüber Normalgewichtigen nur um etwa 14 % herabgesetzt (Tab. 4). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen GRIGLIO et al. (55) bei fettreich gefütterten Ratten. Auch unter Verrechnung dieses Faktors bleiben die für die Adipositas aufgezeigten Signifikanzen bestehen.

Die Messung der Enzymaktivitäten bei a d i p ö s e n P a t i e n t e n m i t E s s e n t i e l l e r H y p e r l i p i d ä m i e ergab bei allen Enzymen annähernd eine Mittelstellung dieses Enzymmusters zwischen denen der Adipositas und denen der Essentiellen Hyperlipidämie. Adipositas und Hyperlipidämie bedeuten nach dem Enzymmuster zwei getrennte Zustandsformen für den Stoffwechsel des Fettgewebes, die sich bei gleichzeitigem Auftreten überlagern, ohne sich zu potenzieren. Bei Adipösen ist außerordentlich häufig eine Störung der Glukoseutilisation nachzuweisen (70a). Da die Adipositas qualitativ einige der Hyperlipidämie ähnliche Enzymabweichungen von der Norm aufweist (Glukose-6-Phosphatdehydrogenase, Phosphofruktokinase und Pyruvatkinase), könnte jeder Überge-

wichtige als potentieller Hyperlipämiker betrachtet werden. Dafür spricht auch, daß durch Senkung des Körpergewichtes und oft schon durch eine hypokalorische Ernährung eine signifikante Senkung erhöhter Serumlipidwerte zu erreichen ist. Eine gestörte Triglycerid-Assimilation aus dem Blut in das Fettgewebe bei Adipositas wird von SCHLIERF und KÄHLKE (115a) diskutiert.

Die Adipositas ist nicht nur eine mögliche Ursache der Hyperlipidämie (107), sondern auch ein Risikofaktor für den Diabetes mellitus (9, 51), der wiederum als häufige Grundkrankheit bei der Symptomatischen Hyperlipidämie bekannt ist. Das von uns untersuchte Kollektiv der Diabetiker setzt sich aus unbehandelten, bzw. schlecht eingestellten Patienten, deren Nüchternblutzuckerwerte über 150 mg% lagen, zusammen. SCHMIDT und SCHMIDT (116.) fanden, daß weniger die Art der Behandlung als die jeweilige Stoffwechsellage mit dem Enzymmuster in der diabetischen Leber korreliert. Das Fettgewebs-Enzymmuster des Diabetes unterscheidet sich von allen bisher besprochenen durch einen signifikanten Anstieg der Glukophosphomutase und der Glutamatoxalacetattransaminase. Die Erhöhung der Transaminasen, Glutamatpyruvattransaminase und Glutamatoxalacetattransaminase, und der Glutamatdehydrogenase könnte mit einer gesteigerten Metabolisierung von Aminosäuren erklärt werden, die in der Leber für die Glukoneogenese benötigt werden (116). Enzymuntersuchungen im menschlichen Fettgewebe bei Diabetes sind bisher nicht durchgeführt worden. In der diabetischen Leber fanden SCHMIDT und SCHMIDT erhöhte Aktivitäten fast aller untersuchten Enzyme der Glykolyse (116).

Beim Diabetiker ist eine erhöhte lipolytische Aktivität der Fettzellen bekannt (70a). Wir fanden bei unseren

Diabetes-Patienten eine signifikant herabgesetzte Aktivität der das 3', 5'-Adenosinmonophosphat abbauenden Phosphodiesterase. Für eine von SENFT et al. (118, 119) diskutierte induzierende Wirkung des Insulins auf die Phosphodiesterase können wir damit für das Fettgewebe einen weiteren Hinweis geben. Die lipolytische Aktivität des Fettgewebes ist weitgehend der Konzentration an 3', 5'-Adenosinmonophosphat proportional (18, 140). Dementsprechend fanden wir eine beim Diabetes signifikant erhöhte Glycerinlipolyse (Tab. 3).

Das Enzymmuster der Di a b e t i s c h e n H y p e r - l i p i d ä m i e nimmt ähnlich dem bei adipösen Hyperlipämikern eine charakteristische Mittelstellung zwischen den Enzymwerten bei den jeweiligen Einzeldiagnosen ein. Es besteht zwar eine größere Tendenz zu den bei der Essentiellen Hyperlipidämie gefundenen Enzym-Konzentrationen, doch ist eine erhöhte Glukophosphomutase für den Diabetes typisch (Abb. 5).

Die bisherigen Untersuchungen im Zusammenhang mit einer regulatorisch bedingten Störung des Fettgewebsstoffwechsels haben nicht nur dessen mögliche Rolle für die Pathogenese der Hyperlipidämie deutlich gemacht, sondern darüber hinaus den pathognomonischen Wert eines Enzymmusters im Fettgewebe herausgestellt: Wir konnten für jedes von uns untersuchte Krankheitsbild ein charakteristisches Enzymaktivitätsmuster erarbeiten. Die Bedeutung der Enzymuntersuchungen im Fettgewebe für die Differentialdiagnose von Stoffwechselstörungen, wie sie bei Lebererkrankungen schon seit langem üblich sind (16a, 116, 117), muß in Zukunft näher untersucht werden, zumal das subcutane Fettgewebe einer wiederholten Untersuchung leicht zugänglich ist.

Die Abbildung 6 gibt dafür einen weiteren Hinweis:
Die Enzymmuster von "Nur" Diabetikern, adipösen Diabetikern und "Nur" Adipösen sind hier zusammengestellt und zeigen wieder das typische Übergangsbild. 2 Schlüsselenzyme des Glukoseabbaus (Hexokinase und Phosphofruktokinase) scheinen allerdings einen sich potenzierenden Grad von Aktivitätsmin-
derung bei den Patienten mit Diabetes+Adipositas aufzuweisen. Es steht außer Frage, daß Enzymuntersuchungen im Fettgewebe einen Beitrag zur Aufklärung der diabetogenen Wirkung bei Fettleibigkeit (10) ergeben können.
"Der Fettstoffwechsel kann heute nicht mehr isoliert betrachtet werden. Es bestehen vielmehr regulative Wechselbeziehungen zwischen Stoffwechsel von Fett und Kohlenhydraten. Unter physiologischen Bedingungen dienen sie der Ökonomie des Energiestoffwechsels. Unter pathologischen Bedingungen erklären sie häufige Koinzidenz von Störungen im Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel." (JAHNKE und GRIES; 70a).

E. ZUSAMMENFASSUNG

- 1) Es werden 17 Enzymaktivitäten und die Glycerin-Lipolyse im subcutanen Fettgewebe des Menschen ($n = 21$) gemessen und mit in der Literatur angegebenen Werten verglichen. Die von uns untersuchten Enzyme des Glukose-Stoffwechsels weisen auf einen überwiegend über den Pentosephosphatzyklus laufenden Glukose-Abbau hin (Shunt-Enzyme relativ groß), während die Phosphofruktokinase (rate limiting enzyme für die anaerobe Glykolyse) als niedrigste Enzymaktivität gefunden wird. Die Enzyme der Glukoneogenese fehlen. Ebenso erweisen sich das Malic Enzyme, das Citrate Cleavage Enzyme und die Glycerokinase im Humanfettgewebe als zu klein für den Meßbereich der von uns verwendeten Methoden. (Im epididymalen Fettgewebe der Ratte kann das Malic Enzyme in Spuren und das Citrate Cleavage Enzyme in einer Aktivität von 2,2 mU/mg Extraktprotein nachgewiesen werden.) Das für die Triglyceridsynthese wichtige α -Glycerophosphat kommt aus dem Glukose-Stoffwechsel (große GDH-Aktivität).
- 2) Die Enzymaktivitäten im subcutanen Fettgewebe von Patienten mit Hyperlipidämie verschiedener Genese ($n = 33$) sprechen für eine herabgesetzte Glukoseverwertung (Shunt-Enzyme, Hexokinase und Phosphofruktokinase erniedrigt). Weiterhin sind die Malatdehydrogenase und die Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase-Aktivitäten vermindert, während die Transaminasen und die Glutamatdehydrogenase unverändert bleiben. Wir finden keine Korrelation zwischen der Höhe der Serumlipidwerte und den Enzymaktivitätsänderungen.
- 3) Eine Aufschlüsselung des erweiterten Patientengutes ($n = 66$) ergibt für die einzelnen Hyperlipidämie-Formen charakteristische Enzymmuster.

Die E s s e n t i e l l e H y p e r l i p i d ä m i e (serumelektrophoretisch Typ IV, Kohlenhydrat-induziert) zeigt die Aktivitätsänderungen des Hyperlipidämie-Gesamtkollektives akzentuiert. In der Literatur wird ein gestörter Leberstoffwechsel mit einer vermehrten Triglyceridsynthese auf Kohlenhydrat-Belastung diskutiert (115a). Wir stellen die These auf, daß ein gestörter Glukoseabbau im Fettgewebe (dem Hauptorgan der Glukose-Verwertung) pathogenetisch an der Hyperlipidämie über eine vermehrte Leberbelastung beteiligt sein könnte. Ob eine verringerte Glukoseutilisation des Fettgewebes über eine verminderte α -Glycerophosphat-Bereitstellung auch zu einer herabgesetzten Triglycerid-Assimilation führt, läßt sich durch die Messung der Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase-Aktivität (erniedrigt) allein nicht entscheiden.

Bei der A l k o h o l - i n d u z i e r t e n H y p e r l i p i d ä m i e finden wir ein normales Enzymmuster; lediglich die Hexokinase ist leicht erniedrigt. (Randle-Zyklus?)

Auch bei dem N e p h r o t i s c h e n S y n d r o m messen wir andere Enzym-Aktivitäten als bei der von uns untersuchten essentiellen Form der Hyperlipidämie. Das Enzymmuster ähnelt dem bei Alkohol-induzierter Hyperlipidämie. Darüber hinaus finden wir Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase, Glukophosphomutase, Glutamatoxalacetat- und Glutamat-pyruvattransaminase erhöht. Diese Befunde werten wir als einen starken Hinweis für die pathogenetische Rolle des Fettgewebes bei der Essentiellen Hyperlipidämie, da die Serumlipidwerte der Patienten aller drei Kollektive quantitativ und qualitativ weitgehend übereinstimmen und die von uns berücksichtigten Patienten unter keiner Diät standen.

A d i p ö s e P a t i e n t e n ohne Hyperlipidämie weisen qualitativ bei einigen Enzymen ähnliche Aktivitätsänderungen wie die Essentiellen Hyperlipidämiker auf (Glukose-6-Phosphatdehydrogenase, Pyruvatkinase, Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase erniedrigt). Schon seit langem wird ja bei a d i p ö s e n (e s s e n t i e l l e n) H y p e r - l i p ä m i k e r n Abmagerung als Therapie verschrieben. Das Enzymmuster dieser Patienten liegt zwischen denen mit "Nur"-Adipositas und "Nur"-Hyperlipidämie.

Ein entsprechendes Ergebnis finden wir bei der D i a b e - t i s c h e n H y p e r l i p i d ä m i e, deren Enzymmuster ein Mischbild von Essentieller Hyperlipidämie und Diabetes ohne Hyperlipidämie (alle Enzyme gering, Glukophosphomutase und Glutamatoxalacetattransaminase signifikant erhöht) bietet. Das Fettgewebe der Diabetiker hat in vitro eine gesteigerte Glycerinlipolyse, während die PDE-Aktivität im Vergleich zu Normalwerten herabgesetzt ist (AMP-Mechanismus des Insulin durch PDE-Induktion).

Die Aktivitätsspiegel von Patienten mit D i a b e t e s + A d i p o s i t a s nehmen eine Mittelstellung zwischen den "Nur"-Diabetikern und den "Nur"-Adipösen ein.

- 4) Therapie: Mit 2×10^{-5} Mol Dehydroepiandrosteronsulfat werden in vitro die Enzyme Glukose-6-Phosphatdehydrogenase, Pyruvatkinase und Glycerin-1-Phosphatdehydrogenase gehemmt. Während sich in vivo bei 4 Patienten mit Essentieller Hyperlipidämie weder eine Änderung der Enzymaktivitäten noch der Lipidwerte findet, können wir bei einem Patienten eine Korrelation zwischen Enzym-Normalisierung und Lipidsenkung nachweisen. Die Beseitigung der Hyperlipidämie bei 3 Patienten mit Clofibrat (Regelan) führt nicht zu einer Normalisierung des Enzymmusters und spricht ebenfalls gegen ein lediglich adaptives Verhalten der Fettgewebsenzyme bei Hyperlipidämie.

- 5) Alle Kollektive haben einen etwa gleichen Gehalt an löslichem Extraktprotein in den Fettgewebsproben mit Ausnahme der adipösen Patienten. Die Abnahme des Extraktproteines von ca. 14 % kann jedoch nicht für die bei diesen Kollektiven aufgezeigten Signifikanzen verantwortlich gemacht werden. Um eine zusätzliche, methodisch bedingte Fehlerquelle auszuschalten, haben wir deshalb die Enzymaktivitäten bezogen auf 1 g Frischgewicht angegeben. (Die Normalwerte sind auch auf 1 mg Extraktprotein bezogen, um einen größeren Literaturvergleich zu ermöglichen.)

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. AHRENS, E.H., Jr. J. HIRSCH, K. OETTE, J. FARQUHAR and Y. STEIN:
Carbohydrate-Induced and Fat-Induced Hyperlipemia.
Trans. Ass. Amer. Phys. 74 (1961) 134
2. ANSTALL, H.B. and D. MARRACK:
Glycogen in Man: Synthesis and Regulation.
Am. J. Clin. Path. 50 (1968) 3
3. ATKINSON, D.E.:
Biological Feedback Control at the Molecular Level.
Interaction Between Metabolite-modulated Enzymes
Seems to be a Major Factor in Metabolic Regulation.
Science 150 (1965) 851
4. BAGDADE, J.D., D. PORTE jr., and E.L. BIERMAN:
Hypertriglyceridemia. - A Metabolic Consequence of
Chronic Renal failure.
New Engl. J. Med. 279 (1968) 181
5. BALLARD, J.F., R.W. HANSON, G.A. LEVEILLE:
Phosphoenolpyruvate Carboxykinase and the Synthesis
of Glyceride-Glycerol from Pyruvate in Adipose Tissue.
J. Biol. Chem. 242 (1967) 2746
6. BARANOWSKI, T.:
Crystalline Glycerophosphate Dehydrogenase from
Rabbit Muscle.
J. Biol. Chem. 180 (1949) 535
7. BEISENHERZ, G., H.J. BOLTZE, Th. BÜCHER, R. SZOL, H. GARBADE,
E. MEYER-ARENDT und G. PFLEIDERER:
Diphosphofructose-Aldolase, Phosphoglyceralddehyd-
Dehydrogenase, Milchsäure-Dehydrogenase, Glycero-
phosphat-Dehydrogenase und Pyruvat-Kinase aus Kanin-
chenmuskulatur in einem Arbeitsgang.
Z. Naturforsch. 8b (1953) 555

3. BESSEY, O.A., O.H.LOWRY and M.J.BRODE:
A Method for the Rapid Determination of Alkaline Phosphatase with Five Cubic Millimeters of Serum.
J.Biol.Chem. 164 (1946) 321
9. BIERMAN, E.L., J.D.BAGDADE and D.PORTE:
Obesity and Diabetes: The Odd Couple.
The Am.J.Clin.Nutr. 21 (1968) 1434
10. BJÖRNTORP, P.:
Studies on Adipose Tissue from Obese Patients with and without Diabetes Mellitus.
II. Basel and Insulin Stimulated Glucose Metabolism.
Acta med.Scand. 179 (1966) 229
11. BJÖRNTORP, P., T.SCHWERSTEN and A.GOTTFRIES:
Effects of Glucose Infusions on Adipose Tissue. Lipogenesis in Man.
Acta med.Scand. 184 (1968) 565
12. BLACKARD, W.G. and Ch.N.APRILL:
Mechanism of Action of Diadoxide.
J.lab.clin.Med. 69 (1967) 960
13. BÜRGER, M. und O. GRÜTZ:
Über hepatosplenomegale Lipoidose mit xanthomatösen Veränderungen in Haut und Schleimhaut.
Arch.Derm.Syph. (Berl.) 166 (1932) 542
14. BRECH, W.J.:
Die physiologische Rolle des Fettgewebes.
Klin.Wschr. 45 (1967) 905
15. BRECH, W.J. und E.S. GORDON:
Lipidsynthese aus Glucose bei kohlenhydratinduzierter Hyperlipidämie.
Verhdlg.d.Dtsch.Ges.f.Inn.Med. 74 (1968) 939
16. BRAUNSTEINER, H., M.HERBST, H.ROMBERG, S.SAILER und F.SANDHOFER:
Familienuntersuchungen bei primärer kohlenhydrat-induzierter Hypertriglyceridämie.
Schweiz.Med.Wschr. 99 (1969) 286

- 16a. BÄR, U., E. SCHMIDT und F.W. SCHMIDT:
Enzymmuster in der menschlichen Leber bei D.M.
Ferment-Aktivitätsbestimmung in der menschlichen
Leber.
Klin.Wschr. 41 (1963) 37
17. BROWN, J., P.McLEAN and A.L. GREENBAUM:
Influence of Thyroxin and Luteinizing Hormone on
Some Enzymes Concerned with Lipogenesis in Adipose
Tissue, Testis and Adrenal Gland.
Biochem.J. 101 (1966) 197
18. BUTCHER, R.W. and E.W. SUTHERLAND:
The Effects of the Catecholamines, Adrenergic
Blocking Agents, Prostglandin E_1 and Insulin
on cyclic AMP Levels in the Rat Epididymal Fat
Pad in Vitro.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 139 (1967) 849
19. BÜCHER, Th., E. SCHMIDT, F.W.SCHMIDT, H.D.HORN und U.GERLOH:
Vortrag 9th, Middle East Assembly Beirut 1959
20. BÜCHER, Th., W.LUH und D.PETTE:
Einfache und zusammengesetzte Tests mit Pyridin-
nucleotiden.
Hoppe-Seyler/Thierfelder, Handb.physiol.pathol.
chem.Anal.Bd.VI (1964) p.291
21. CAMPBELL, J., A.D. MARTUCCI, G.R. GREEN:
Plasma Albumin as an Acceptor of Free Fatty Acids.
Biochem.J. 93 (1964) 183
22. CHAKRABARTY, K. and G.A. LEVEILLE:
Influence of Periodicity of Eating on the Activity
of Various Enzymes in Adipose Tissue, Liver and
Muscle of the Rat.
J.Nutr. 96 (1968) 76
23. CHASSON, A.L.H.J.GRADY and M.A. STANLEY:
Nach Methoden für Technicon-Autoanalyzer.

24. DAVIES, D.D. and E.KUN:
Isolation ~~and~~ Properties of Malic Dehydrogenase
from OX-Heart Mitochondria.
Biochem.J. 66 (1956) 307
25. DELBRÜCK, A.:
Zur Enzymologie des Bindegewebes.
Enzymol.biol.clin. 4 (1964) 84
26. DELBRÜCK, A., E. ZEBE und Th.BÜCHER:
Über Verteilungsmuster von Enzymen des Energie
liefernden Stoffwechsels im Flugmuskel, Sprung-
muskel und Fettkörper von Locusta Migratoria
und ihre cytologische Zuordnung.
Biochem.Z. 331 (1959) 273
27. DENTON, R.M. and P.RANDLE:
Citrate and the Regulation of Adipose-Tissue
Phosphofructokinase.
Biochem.J. 100 (1966) 420
28. DITSCHUNEIT, H.:
Die hormonelle Regulation von Lipolyse und
Lipogenese des Fettgewebes.
Therapiewoche 45 (1968) 2015
29. DOLE, V.P. and MEINERTS:
Microdetermination of Long-Chain Fatty Acids
in Plasma and Tissue.
J.Biol.Chem. 235 (1960) 2595
30. DRUMMOND, G.I. and S.PERROTT-YEE:
Enzymatic Hydrolysis of Adenosine 3',5'-Phosphoric
Acid.
J.Biol.Chem. 236 (1961) 1126
31. EGGSTEIN, M.:
Die Regulation und pathogenetische Bedeutung
der Plasmaneutralfette.
Wien.Klin.Wschr. 79/39 (1967) 709

32. EGGSTEIN, M. und F.H. KREUTZ:
Eine neue Bestimmung der Neutralfette im
Blutserum und Gewebe.
Klin.Wschr. 44 (1966) 262
33. EISENBETH, R. und J.RAAB:
L'Hyperlipemie des alcooliques.
Arch.Mal.App.Dig. 49 (1960) 572
34. ENDAHL, G.L. and C.D.KOCHAKIAN:
Ionic Strength of Homogenizing Medium on
Glutamic Dehydrogenase Activity of Tissue.
Proc.Soc.Exp.Med.Biol.94 (1957) 192
35. ENGLHARDT, A., K.HAGEMANN und K.JAHNKE:
Enzyme des energieliefernden Stoffwechsels im
menschlichen Fettgewebe.
Enzym.biol.clin. 9 (1968) 287
- 35a. FAVARGER, P. und F.GERLACH:
Studies on the Synthesis of fats in Mouse Adipose
Tissue.
Helv.physiol.pharm.Acta 12 (1954) 15
36. FARQUHAR, J., A.FRANK, R.C.GROSS and C.M.REAVEN:
Glucose, Insulin and Triglycerid Response to
High and Low Carbohydrate Diets in Man.
J.Clin.Invest. 45 (1966) 1648
- 36a. FELLER, D.D.:
Metabolism of Adipose Tissue. I. Incorporation
of acetate into lipids by slices of adipose tissue.
J.biol.Chem. 206 (1954) 171
- 36b. FELT, V. and L.STARKA:
Metabolic Effects of DHEA and Atromid in
Patients with Hyperlipemia.
Cor.Vasa 8 (1): 40-48 (1969)
37. FISCHER, H.O.L.:
Chemische Synthesen von Zwischenprodukten des
Zuckerstoffwechsels. In: Neuere Methoden der prä-
parativen organ.Chemie, Bd.II, o.173
Hrsg.W.Foerst, Verl.Chemie, Weinheim: Bergstr. 1

38. FISKE, C.H. and J. SUBBAROW:
The Colometric Determination of Phosphorus.
J. Biol. Chem. 66 (1925) 375
39. FLATT, J.P. und E.G. BALL:
Studies on the Metabolism of Adipose Tissue.
XIX. An Evaluation of the Major Pathways of
Glucose Catabolism as Influenced by Acetate
in the Presence of Insulin.
J. Biol. Chem. 241 (1966) 2862
40. FREDERICKSON, D.S. and R.S. LEES:
A System for Phenotyping Hyperlipoproteinemia.
Circulation 31 (1965) 321
41. FREDERICKSON, D.S., K. ONO and L.L. DAVIS:
Lipolytic Activity of Postheparin Plasma in
Hyperglyceridemia.
J. Lipid. Res. 4 (1963) 23
42. FREDERICH, H. and E.G. BALL:
Studies on the Metabolism of Adipose Tissue.
XI. Activation of Phosphorylase of Agents Which
Stimulate Lipolysis.
Biochemistry 1 (1962) 501
43. GALTON, D.J.:
Lipogenesis in Human Adipose Tissue.
J. Lipid. Res. 1 (1968) 19
44. GALTON, D.J.:
Regulation of Supply of Glycerol Phosphate for
Lipogenesis in Human Adipose Tissue.
Clin. Sci. 36 (1969) 505
45. GALTON, D.J. and G.A. BRAY:
Metabolism of alpha-Glycerol Phosphate in Human
Adipose Tissue in Obesity.
Clin. Endocrin. 27 (1967) 1573

46. GEIGY, Documenta:
Wissenschaftliche Tabellen.
Basel, 1969, 7.Auflage
47. GIBSON, D.N.:
The Biosynthesis of Fatty Acids.
J.Chem.Educ. 42 (1969) 236
48. GLOCK, G.E., P.Mc.LEAN and J.K. WHITEHEAD:
Pathways of Glucose Catabolism in Rat Liver in
Alloxan Diabetes and Hyperthyroidism.
Biochem.J. 63 (1956) 520
49. GORDON, R.S.:
Unesterified Fatty Acids in Human Blood Plasma.
II. The Transport Function of Unesterified
Fatty Acids.
J.Clin.Invest. 36 (1957) 810
50. GORIN, E., Z.TAL-OR and E.SHAFRIR:
Glyceroneogenesis in Adipose Tissue of Fasted,
Diabetic and Triacinelone Treated Rats.
Europea J.Biochem. 8 (1969) 370
51. GRASSI, L., J.P.FELBER, N.ZARAGOZA et A.VANNOTTI:
Obesite et diabete.
Schweiz.Med.Wschr. 98 (1968) 157
52. GREENSTEIN, J.P.:
Biochem. of Cancer, N.York 1954
53. GRIES, F.A.:
Pathogenese der Essentiellen Hyperlipidämien:
Idiopathie als Primum movens.
3.Symp.üb.Klin.Ernährungslehre, München 1968
54. GRIGLIO, S., I.GORANOV, M.LAVAU et R.LOWY:
Etude des activites enzymatiques du foie et du
tissu adipeux epididymaire du rat Wistar H au
cours de l'administration a long terme d'un regime
hyperlipidique. I.Evolution des activites avec
le temps.
Enzymol.biol.clin. 10 (1969) 187

55. GRIGLIO-GRADNAUER, S., M. LAVAU et R. LOWY:
Activites enzymatiques du foi et du tissu adipeux
epididymaire chez le Rat en etat d'obesete nutri-
tionnelle.
R.C.Soc.Biol. 161 (1967) 106
56. GRIMM, F.C. and D.G. DOHERTY:
Properties of the Two Forms of Malic Dehydrogenase
from Beef Heart.
J.Biol.Chem. 236 (1961) 1980
57. GRÖSCHNER, E.:
Enzymaktivitätsmuster des Mundschleimhautepithels
vom Menschen.
Enzym.Biol.Clin. 9 (1968) 183
58. GUTMAN, A., H. SCHRAMM and E. SHAFRIR:
Adipose Tissue Glycogen. Turnover and Characteriza-
tion after Labeling with Glucose in Vivo.
Israel J.Med.Sci. 3 (1967) 427
59. HANSON, R.W. and F.J. BALLARD:
Citrate, Pyruvate and Lactate Contaminants of
Commercial Serum Albumin.
L.Lipid.Res. 9 (1968) 667
60. HARLAN, W.R., P.S. WINSTETT and A.J. WASSERMAN:
Tissue Lipoprotein Lipase in Normal Individuals
with Exogenous Hypertriglyceridemia and the
Relationship of this Enzyme to Assimilation of Fat.
J.Clin.Invest. 46 (1967) 239
61. HARPER, A.E. in H.U. BERGMAYER:
Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie, Weinheim, Bergstr. 1962, S. 788
62. HAUSBERGER, F.X., S.W. MILSTEIN and R.J. RUTMAN:
The Influence of Insulin on Glucose Utilisation
in Adipose and Hepatic Tissue in Vitro.
J.Biol.Chem. 208 (1954) 431

63. HAVEL, R.J. and R.S. GORDON:
Idiopathic Hyperlipidemia: Metabolic Studies
in an Affected Family.
J.Clin.Invest. 39 (1960) 1777
64. HENSON, C.P. and W.W. CLELAND:
Biochem. 3 (1967) 338
65. HIRSCH, J., J.L. KNITTLE and L.B. SALANS:
Cell Lipid Content and Cell Number in Obese and
Nonobese Human Adipose Tissue.
Clin.Invest. 45 (1966) 1023
66. HOHORST, H.J., P. ARESE, H. BARTELS, D. STRATMAN and
H. TALKE:
Lactic acid and the Steady State of cellular
of Red. Ox. Systems.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 119 (1965) 974
67. HOHORST, H.J., F. KREUTZ and M. REIM:
Steady State Equilibria of Some DPN-Linked Reactions
and the Oxidation-Reduction State of the DPN-System
in the Cytoplasmatic Compartment of Liver Cells
in Vivo.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 4 (1961) 159
68. HOHORST, H.J., M. REIM and H. BARTELS:
Equilibria of two Partner Reactions of Energy
Supplying Metabolism in Muscle.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 7 (1962) 137
69. HORECKER, B.L.:
Stoffwechsellaage der Kohlenhydrate: Ihre Regulierung
und physiologische Bedeutung I-III.
Medizin und Ernährung 10. Jg. Mai 1969
70. HORECKER, B.L. and P.Z. SMYRNIOTIS:
In: Colowick-Kaplan, Meth.Enzymol. Bd. I, S. 323

- 70a. JAHNKE, K. und F.A.GRIES:
Endokrine Regulation des Fettstoffwechsels.
Medizin und Ernährung 4 (1965) 77
71. JENDRASSIK u.P.GRAF:
Biochem.Z. 289 (1938) 81
72. JOSHI, J.G. and P.HANDLER:
Phosphoglucomutase I. Purification and Properties
of Phosphoglucomutase of *Escherichia Coli*.
J.Biol. 239 (1964) 2741
73. KAHLKE, W., G.SCHETTLER und G. SCHLIERF:
Die Essentiellen Hyperlipidämien.
Dtsch.Med.J. 19/8 (1968) 258
74. KANE, J.P., L.CHRISTOPHER, F.C.PAVLATOS and G.M.GRODSKY:
Studies of Carbohydrate Metabolism in Idiopathic
Hypertriglyceridemia.
Metabolism 14 (1965) 471
75. KARLSON, P.:
Wirkungsmechanismen der Hormone.
Springer Verlag Berlin 1967
76. KARMEN, A., F.WROBLEWSKI and J.S.La DUE:
Transaminase Activity in Human Blood.
J.Clin.Invest. 34 (1955) 126
77. KIRKMAN, H.N.:
Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and Human Erythrocytes, Characterisations of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase from Normal and Primogaine Erythrocytes.
Nature 184 (1959) 1291
78. KLENOW, H. and R. EMBERLAND:
The Enzymatic Reaction between Ribose-1-Phosphate and Glucose-1.6-Diphosphate.
Arch.Biochem. 58 (1955) 276

79. KORNACKER, M.S. and E.G. BALL:
Citrate Cleavage Enzyme in Adipose Tissue.
Proc.Nat.Acad.Sci. 54 (1965) 899
80. KORNBERG, A. and B.L. HORECKER:
In: S. Colowick u.N.Kaplan, Methods in Enzymology,
Bd.I, p.323, Acad.Press 1955
81. KREUTZ, F.H.:
Methoden für den Technikon-Autoanalyser.
- 81a. MARSH, W.H., B.FINGERHUT and E.KIRSCH:
Determination of Urea Nitrogen with the Diacetyl
Method and an Automatic Dialyzing Apparatus.
Amer.J.Clin.Pathol. 28 (1957) 681
82. KREYSZIG, E.:
Statistische Methoden.
Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen 1968, 3.Auflage
83. KUO, P.T., L.FENG, N.N.COHEN, W.T.FITTS Jr. and L.D.MILLER:
Dietary Carbohydrates in Hyperlipemia (Hyper-
glyceridemia);
Am.J.Clin.Nutr. 20 (1967) 116
- 83a. LEE, Y.P. and H.A. LARDY:
Influence of Thyroid Hormones on L-alpha-Glycero-
phosphat Dehydrogenase and other Dehydrogenases in
Various Organs of the Rat.
J.Biol.Chem. 240 (1965) 1427
84. LEVEILLE, G.A.:
Lipogenesis in Adipose Tissue of Meal-Fed Rats
A. Possible Regulatory Role of alpha-Glycero-
phosphat Formation.
Canad.J.Physiol.Pharm. 45 No.2 (1967) 201
85. LINNEWEH, F.:
Enzyme unter biologischem Aspekt. Erbliche Stoff-
wechselkrankheiten.
Springer Verlag, Heidelberg 1962

86. LÖHR, G.W. und H.D. WALLER in H.U. BERGMAYER:
Methoden der enzymatischen Analyse.
Verl.Chemie, Weinheim, Bergstr. 1962, p. 744
87. LOPEZ, KREHL:
A Possible Interrelation Between Glucose-6-
Phosphate Dehydrogenase and Dehydroepian-
drosteron in Obesity.
Lancet, Sept. 2 (1967) 485
88. LÖWENSTEIN, J.M.:
The Pathway of Hydrogen in Biosynthesis.
I. Experiments with Glucose-1- H^3 - and Lactate-2- H^3 .
J.Biol.Chem. 236 (1961) 1231
89. McLEAN, P., J. BROWN and A.L. GREENBAUM:
Hormonal Control of Carbohydrate Metabolism of
Adipose Tissue in Carbohydrate Metabolism and its
Disorders by F.DIEKENS, P.J. RANDLE, W.J.WHELAN.
Acad.Press, London and New York, Vol. I (1968) J.B.
90. MEHLER, A.H. KORNBERG, S.GRISOLIA and S.OCHOA:
The enzymatic Mechanism of Oxydation-Reductions
between Malate or Isocitrate and Pyruvate.
J.Biol.Chem. 174 (1948) 961
91. MÜLLER-OERLINGHAUSEN, B., U.SCHWABE, A.HASSELBLATT und
F.H. SCHMITT:
Activity of 3', 5'-AMP-Phosphodiesterase in Liver
and Adipose Tissue of Normal and Diabetic Rats.
Life Sc. 7 (1968) 593
92. NEGELEIN, E.:
Unveröffentlicht (Protokoll und Manuskript durch
Kriegseinwirkung verloren).
93. OCHOA, S.:
In: S. Colowick und N. Kaplan, Methods in
Enzymology. Bd.I, p.735, Acad.Press 1955

94. OLSON, J.A. and C.B. ANFINSEN:
The Crystallisation and Characterisation of
L-Glutamic Dehydrogenase.
J.Biol.Chem. 197 (1952) 67
95. PETTE, D.:
Mitochondrial Enzyme Activities.
In: Tager, J.M., S. Papa, Quagliariello, E. and
E.C. Slater.
Biochem.Biophys.Library 7 (1966) 28
96. PETTE, D.:
Plan und Muster im zellulärem Stoffwechsel.
Die Naturwissenschaften 52 (1965) 597
97. PETTE, D., W.BROSEMER und W.VOGELL:
Biochem.Z., in Vorbereitung.
98. PETTE, D. und Th. BÜCHER:
Proportionskonstante Gruppen in Beziehung zur
Differenzierung von Enzymaktivitätsmuster von
Skelettmuskeln des Kaninchens.
Z.Phys.Chem. 331 (1963) 180
99. PETTE, D., M.KLINGENBERG und Th.BÜCHER:
Comparable and Specific Proportions in the
Mitochondrial Enzyme Activity Pattern.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 7 (1962) 425
100. PETTE, D. und W. LUH:
Constant Proportion Groups of Multilocalized Enzymes.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 8 (1962) 283
101. PETTE, D., W.LUH und Th.BÜCHER:
A Constant Proportion in the Enzyme Activity Pattern
of the Embden-Meyerhof Chain.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 7 (1962) 419
102. PFLEIDERER, G., L.GREIN und Th.WIELAND:
"Spezifische Bestimmung L-Alanin und L-Glutamin-
säure mit Hilfe der GPT".
Ann.Acad.Sci.fenn. A60 (1955) 381

103. RACKER, E.:
Spectrophotometric Measurement of Hexokinase and
Phosphohexokinase Activity.
J.Biol.Chem. 167 (1947) 843
104. RACKER, E. and E.A.R. SCHROEDER:
The Reductive Pentose Phosphate Cycle.
II. Specific C-1-Phosphatases for Fructose 1,6-
Diphosphate and Sedoheptulose 1,7-Diphosphate.
Arch.Biochem. 74 (1958) 326
105. RANDLE, P.J., P.B.GARLAND, C.N.HALES and E.A. NEWSHOLME:
The Glucose Fatty-Acid Cycle. Its Role in Insulin
Sensitivity and the Metabolic Disturbances of
Diabetes mellitus.
Lancet, April 1963, 785
106. RAY, W.J. and G.A.ROSCELLI:
A Kinetic Study of the Phosphoglucosmutase Pathway.
J.Biol. 239 (1964) 1228
107. REINHEIMER, W.:
Adipositas und Fettstoffwechsel.
Dtsch.Med.J. 19/8 (1958) 264
108. REYNARD, A.M., L.F.HASS, D.D.JAKOBSEN and P.D.BOYER:
The Correlation of Reaction Kinetic and Substrate
Bindung with the Mechanism of Pyruvate Kinase.
J.Biol.Chem. 236 (1961) 2277
109. ROBINSON, J. and E.A. NEWSHOLM:
Glycerol Kinase Activities in Rat Heart and
Adipose Tissue.
Biochem.J. 104 (1967) 2c
110. ROGNSTAD, R.:
The Pyruvate Cycle in Adipose Tissue.
Arch.Biochem.Biophys. 129 (1969) 13

111. ROGNSTAD, R. und J.KATZ:
The Balance of Pyridine Nucleotides and ATP in
Adipose Tissue.
Proc.nat.Acad.Sci. (Wach.) 55 (1966) 1148
112. RUDMAN, D. and M.DIGIROLAMO:
Comparative Studies on the Physiology of Adipose
Tissue. Advances in Lipid Research 5 (1967) 35
113. RUTTER, W.J. and H.A.LARDY:
Purification and Properties of Pigeon Liver Malic
Enzyme.
J.Biol.Chem. 233 (1958) 374
114. SANDHOFER, BOLZANO, K., S. SAILER und H.BRAUNSTEINER:
Über den Einbau von Plasmaglutose-Kohlenstoff
in Plasmaliglyceride bei Normalpersonen und
Hyperlipämikern.
Klin.Wschr. 46/3 (1968) 158
115. SCHETTTLER, G.:
Differenzierung und medikamentöse Therapie der
Lipämien.
Dtsch.Med.J. 19/8 (1968) 250
- 115a. SCHLIERF, G. und W.KAHLKE:
Fettstoffwechsel, in: Klinische Pathophysiologie,
hrsg.v.W. Siegenthaler, Thieme Verlag, Stuttgart
- 1970.
116. SCHMIDT, E. und F.W.SCHMIDT:
Enzymmuster menschlicher Gewebe.
Klin.Wschr. 38/19 (1960) 957
117. SCHMIDT, E., F.W.SCHMIDT und E.WILDHIRT:
Aktivitätsbestimmungen von Enzymen in der mensch-
lichen Leber.
Klin.Wschr. 37 (1959) 1221
118. SENFT, G.:
Hormonal Control of Carbohydrate and Lipid Metabolism
and Drug Induced Alterations.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharm.exp.Path. 259 (1968) 117

119. SENFT, G., G. SCHULTZ, K. MUNSKE and M. HOFFMANN:
Effect of Glucocorticoids and Insulin on 3', 5'-AMP
Phosphodiesterase Activity in Adrenalectomized Rats.
Diabetologia 4 (1968) 330
120. SEUBERT, W.:
Stoffwechsel der Kohlenhydrate: Die Glukoneogenese
in: *Handb.d.Diabetes mellitus I*, Hrsg.E.F.Pfeiffer,
J.F. Lehmanns Verlag München 1969
121. SHAPIRO, B., M. STATTER and G. ROSE:
Pathways of Triglycerid formation in Adipose Tissue
B.B.A. Amsterdam 44 (1960) 373
122. SHONK, C.E. and G.E. BOXER:
Enzyme Patterns in Human Tissues. I. Methods for the
Determination of Glycolytic Enzymes.
Enzyme Patterns in Human Tissue, II. Glycolytic
Enzyme Patterns in Nonmalignant Human Tissues.
Cancer Research 24 (1964) 709 bzw. 722
123. SHRAGO, E., J.A. GLENNON and E.S. GORDON:
Studies on Enzyme Concentration and Adaptation.
J.Clin.Endocrin.and Metabolism 27 (1967) 679
124. SHRAGO, E., T. SPENETTA and E. GORDON:
Fatty Acid Synthesis in Human Adipose Tissue.
J.Biol.Chem. 244 (1969) 2761
- 124a. SKEGGS, L.T.:
An Automatic Method for Colorimetric Analysis.
Amer.J.Clin.Path. 28 (1957) 311
125. STEIN, M.W., G.T. CORI and C.F. CORI:
A Comparative Study of Hexokinase From Yeast
and Animal Tissues.
J.Biol.Chem. 186 (1950) 305
126. SOLS, A. and R.K. CRANE:
Substrate Specificity of Brain Hexokinase.
J.Biol.Chem. 210 (1954) 581

127. SPERRY, W.M. and M.WEBB:
A Revision of the Schoenheimer-Sperry Method for
Cholesterin Determination.
J.Biol.Chem. 187 (1950) 97
128. SRERE, P.A.:
The Citrate Cleavage Enzyme. I.Distribution and
Purification.
J.Biol.Chem. 234 (1959) 2544
129. STAUFFACHER, W.:
Zur Biochemie der Fettzelle.
Therapiewoche 45 (1968) 2011
130. STEINBERG, D. and VAUGHAN, M.:
Release of Free Fatty Acids from Adipose Tissue
in Vitro in Relation to the Rats of Triglyceride
Synthesis and Degradation, in: Handbook of
Physiol., Section V, Adipose Tissue, Amer.Physiol.
Soc., Washington, DC, 1965
- 130a. STEVENS, D.L. and L.T. SKEGGS:
Nach Methoden für Technicon-Autolyzer.
131. STRECKER, H.J.:
In: Colowick-Kaplan-Methods Enzymol., Bds.II, S.220
132. SWANSON, M.A.:
Phosphatase of Liver I. Glucose-6-Phosphatase.
J.Biol.Chem. 184 (1950) 647
133. TEPPERMAN, De La GARZA, TEPPERMAN:
Effects of DHEA Diet Protein on Liver Enzymes and
Lipogenesis.
Am.J.Physiol. 214 (1968) 1126
134. THORP, J.M.:
Lancet II (1962) 1323
135. TJABBES, T., J.D.BAARS and P.S.BLOM:
Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G-6-PD)
Activity in Human Adipose Tissue.
Metabolism XVI (1967) 977

136. TSUTSUI, E.A., P.A. MARKS and P. REICH:
Effect of Dehydroandrosterone on Glucose-6-Phosphate
Dehydrogenase Activity and Reduced Triphosphopyridine
Nucleotide Formation in Adrenal Tissue.
J.Biol.Chem. 237 (1962) 3009
137. TZUR, R., E. TAL and B. SHAPIRO:
Alpha-Glycerophosphate as Regulatory Factor in Fatty
Acid Esterification.
Biochem.Biophys.Acta 84 (1964) 18
138. UTTER, M.F. and K. KURAHASHI:
Purification of Malic Dehydrogenase from
Chicken Liver.
J.Biol.Chem. 207 (1954) 787
139. VAUGHAN, M.:
The Production and Release of Glycerol by Adipose
Tissue Incubated in Vitro.
J.Biol.Chem. 237 (1962) 3354
140. WALSH, D.A. and H.J. SALLACH:
Biochemistry 4 (1965) 1076
141. VOGELL, W., F.R. BISHAI, Th. BÜCHER, M. KLINGENBERG, D. PETTE
und E. ZEBE:
Über strukturelle und enzymatische Muster in
Muskeln von *Locusta migratoria*.
Biochem.Z. 332 (1959) 81
142. WAREMBOURG, H., G. BISERTE, M. PAUCHANT, J. JAILLARD, G. SEZILLE
et M. BERTRAND:
Hyperlipemie au cours d'une hepatite chronique
d'origine alcoolique.
Presse Med. 76 (1968) 2039
143. WEBER, G., G. BANERJEE and J. ASHMORE:
Activities of Enzymes Involved in Glycolysis,
Glucogenesis and Hexosephosphat Shunt in Rat
Adipose Tissue.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 3 (1960) 182

144. WEBER, G., H.J.HIRD, N.B.STAMM and D.S.WAGLE:
Enzymes Involved in Carbohydrate Metabolism
in Adipose Tissue, in: Handbook of Physiology,
Sect. V, Adipose Tissue, Amer.Physiol.Soc.,
Washington D.C. 1965
145. WEBER, G., R.L.SINGHAL and S.K.SKRIIVASTAVA:
Action of Glucocorticoid as Inducer and Insulin as
Suppressor of Biosynthesis of Hepatic Gluconeogenic
Enzymes.
Advances Enzyme Regul. 3 (1965) 43
146. WESTERMANN, E.:
Mechanismus und pharmakologische Beeinflussung der
endokrinen Lipolyse.
12.Symp.dtsch.Ges.f.Endokrinologie 1966, S.154
147. WIELAND, O.:
Der intermediäre Stoffwechsel des Fettgewebes im
Hinblick auf die Koordination des Energiehaushaltes.
12.Symp.dtsch.Ges.f.Endokrinologie 1966, S.138
148. WIELAND, O. und M.SUYTER:
Glycerokinase: Isolierung und Eigenschaften des
Enzyms.
Biochem.Z. 329, (1957) 320
149. WROBLEWSKI and J.S. La DUE:
Serum Glutamic Pyruvic Transaminase in Cardiac
and Hepatic Disease.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 91, (1956) 569
150. YOUNG, H.L. and N.PAGE
Some Physical and Chemical Properties of Crystalline
 α -Glycerophosphate Dehydrogenase.
Arch.Biochem. 75, (1968) 125
151. ZIEVE, L.:
Jaundice, Hyperlipemia and Hemolytic Anemia:
A Heretofore Unrecognized Syndrome Associated
With Alcoholic Fatty Liver and Cirrhosis.
Ann.Intern.Med. 48, (1958) 471

152. ZÖLLNER, N. und K.KIRSCH:

Über die quantitative Bestimmung von Lipoiden
(Mikromethode) mittels der vielen natürlichen
Lipoiden (allen bekannten Plasmalipoiden) ge-
meinsamen Sulfophosphovanillin-Reaktion.

Z.ges.Exp.Med. 135 (1962) 545

L e b e n s l a u f

Am 26.2.1946 wurde ich als Sohn des Tierarztes
Dr.Robert KRONE und seiner Ehefrau Hildegard, geb.
Schünemann, in Gronau/Leine geboren.

4 Jahre besuchte ich die Volksschule in Gronau/Leine,
anschliessend das Gymnasium Andreanum in Hildesheim,
wo ich 1965 das Reifezeugnis erwarb.

Mein Medizinstudium begann ich 1965 in Göttingen. Dort
bestand ich 1966 das Vorphysikum und 1967 das Physikum.

Nach einem klinischen Semester in Göttingen setzte ich
mein Studium an der Universität München fort.

